

ETUDE
SUR LA
COMPOSITION CHIMIQUE
DU STYLE DE MAÏS
(*ZEA MAÏS L.*)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue en Avril 1937

PAR

Max ZELLER

Pharmacien diplômé de la Confédération Héroétique

JURY } MM. A. GORIS, *Président.*
Em. PERROT, *Professeur.*
M. MASCRÉ, *Agrégé.*

Lucien CARIO, Imprimeur

13, Pass. Trubert-Bellier

PARIS (XIII^e)

1937

ETUDE
SUR LA
COMPOSITION CHIMIQUE
DU STYLE DE MAÏS
(*ZEA MAÏS L.*)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue en Avril 1937

PAR

Max ZELLER

Pharmacien diplômé de la Confédération Helvétique

JURY } MM. A. GORIS, *Président.*
Em. PERROT, *Professeur.*
M. MASCRÉ, *Agrégé.*

Lucien CARIO, Imprimeur

13, Pass. Trubert-Bellier

PARIS (XIII^e)

1937

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUERIN, *Doyen*, O. *, ☉ I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, ☉ I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, *, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. GUERIN, O. *, ☉ I. Botanique générale.
PERROT, O. *, ☉ I. Histoire naturelle des médicaments.
COUTIERE, O. *, ☉ I. Zoologie.
LEBEAU, O. *, ☉ I. membre de l'Institut.. Pharmacie chimique.
BOUGAULT, *, ☉ I. Chimie analytique.
GORIS, O. *, ☉ I. Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, ☉ I. Physique.
DAMIENS, *, ☉ I. Chimie minérale.
HERISSEY, O. *, ☉ I. Chimie biologique.
SOMMELET, *, ☉ I. Chimie organique.
LUTZ, *, ☉ I. Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *, ☉ I. Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ☉ I. Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *, ☉ I.

Professeurs honoraires : MM. BEHAL, G. O. *, ☉ I, et DELEPINE, O. *, ☉ I,
membres de l'Institut, et GUERBET, *, ☉ I.

CHARGES DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, ☉ I. . Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *, ☉ I. Pharmacodynamie.
DELABY, *, ☉ I. Hydrologie et Hygiène.
PICON, ☉ I. Chimie minérale.
BACH, ☉ I. Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, ☉ I.
PICON, ☉ I.
MASCRE, ☉ I.
FLEURY, ☉ I.

MM. BACH, ☉ I.
BEDEL, ☉ I.
REGNIER, ☉ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☉ I., *agrégé*, chargé des T. P. de 1^{re} année. Chimie générale.
FLEURY, ☉ I. et REGNIER, ☉ I. : *agrégés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUEGES, ☉ I. Micrographie.
LEROUX, ☉ I. Physique.
DEVAL, *, ☉ I. Microbiologie.
DELABY, *, ☉ I., PICON, ☉ I. et MASCRE, ☉ I. :
agrégés, chargés des travaux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ☉ A.



A MON MAITRE,
Monsieur le Professeur ALBERT GORIS,
Officier de la Légion d'honneur,
Membre de l'Académie de Médecine,
Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux de Paris.

*Hommage de profonde reconnaissance et
de respectueux attachement.*

A Monsieur le Professeur EMILE PERROT,
Commandeur de la Légion d'honneur,
Membre de l'Académie de Médecine,
Membre de l'Académie d'Agriculture,
Membre de l'Académie des Sciences Coloniales.

A Monsieur le Professeur agrégé M. MASCRE,
Pharmacien des Hôpitaux de Paris.

Respectueux hommage de reconnaissance.

A Monsieur le Professeur HANS FLÜCK,
Professeur à l'Ecole Polytechnique Fédérale à Zürich.

*Hommage respectueux et témoignage de
vive gratitude.*

MEIS ET AMICIS

INTRODUCTION

La drogue, que la matière médicale désigne sous le nom de styles de maïs a connu une grande faveur surtout dans la médecine populaire.

Les styles de maïs constituent de longs filaments grêles, capillaires, de couleur brun-clair ou rouge brunâtre.

Pendant la floraison du *Zea Maïs* L. (graminées) les styles de chaque fleur saillent de l'épi qui reste entouré de bractées membraneuses.

Ces filaments qui atteignent jusqu'à 100 μ de largeur et 20 centimètres de longueur se terminent par deux lobes stigmatiques, longs de 1 à 2 millimètres seulement.

Dans le commerce et dans les Pharmacopées on désigne souvent la drogue sous le nom de *Stigmates de maïs*. Cette terminologie « *pars pro toto* » est inexacte.

L'anatomie du style ne révèle rien de particulier.

Les filaments sont étroitement rubannés ou enroulés sur les bords. Une coupe transversale montre qu'ils sont parcourus par deux faisceaux libéro-ligneux. L'épiderme est constitué par des cellules allongées. Les bords du style sont porteurs de poils pluricellulaires dont les cellules marginales se terminent parfois en pointe conique.

Les styles détachés de l'épi et séchés rapidement à l'abri du soleil dans un vif courant d'air, constituent la drogue commerciale.

Après avoir subi des fortunes diverses, considérée par les uns comme douée de propriétés admirables, par d'autres comme un produit dénué d'efficacité, elle figure encore dans plusieurs Pharmacopées.

Les formes pharmaceutiques qui en dérivent (infusion, extrait mou, sirop) et qui sont toutes obtenues par traitement de la drogue par l'eau figurent dans les traités de thérapeutique, parmi les produits doués de propriétés diurétiques.

Peu de travaux ayant été publiés sur cette drogue, et nul principe immédiat n'y ayant encore été caractérisé, nous avons repris son étude sur les conseils et sous la direction de M. le Professeur A. Goris.

Le but initial de ces recherches était la caractérisation du principe auquel pouvaient être attribuées les propriétés diurétiques reconnues ou admises pour cette drogue.

Les traitements par différents solvants, auxquels nous avons eu recours lors de ce travail, nous ont entraîné à étendre cette étude à des corps tels que les lipides, qui, du fait même de leur insolubilité dans l'eau, ne peuvent avoir la moindre action diurétique.

Ces recherches effectuées au laboratoire de Pharmacie galénique de la Faculté de Paris, seront exposées dans l'ordre suivant :

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I. — *Origine géographique et botanique du Maïs.*

CHAPITRE II. — *Emploi du Maïs et des styles en thérapeutique.*

CHAPITRE III. — *Résumé des travaux antérieurs sur la composition chimique des styles de maïs.*

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE IV. — *Analyse des cendres de styles de maïs.*

CHAPITRE V. — *Examen des produits solubles dans l'éther.*

CHAPITRE VI. — *Etude des produits solubles dans l'alcool.*

CONCLUSIONS.

Avant d'exposer le résultat de ces recherches, je tiens à remercier M. le Professeur A. Goris, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et m'avoir guidé de ses conseils toujours bienveillants. Ses encouragements quotidiens ont été pour moi un précieux réconfort pour lequel je tiens à lui manifester ma profonde et infinie reconnaissance.

J'ai le respectueux plaisir de remercier particulièrement M. le Professeur Emile Perrot et M. le Professeur agrégé M. Mascré, d'avoir bien voulu me faire l'honneur d'accepter de siéger dans le jury de ma thèse.

J'exprime également ma reconnaissance à M. M.-M. Janot, Assistant à la Faculté de Pharmacie, pour les judicieux conseils qu'il m'a donné au cours de ce travail et pour l'intérêt qu'il n'a cessé de me témoigner.

Je dois à M. H. Canal d'avoir pu mener à bien ma tâche. Il m'a initié à la recherche scientifique avec beaucoup d'indulgence et m'a guidé tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude et de mon sincère attachement.

Je remercie de même mon ami Ch. Morin dont l'expérience en chimie analytique m'a été très précieuse.

Qu'il me soit enfin permis d'évoquer l'atmosphère de travail et de bonne humeur créée par mes camarades du laboratoire, Mlles J. Fourmont et Y. Breugnot, MM. J. Langlois et Ch. Morin. Je n'oublierai pas la sympathie qu'ils ont témoigné journellement à l'égard de leur collègue étranger.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I

Origine géographique et botanique du maïs.

La question de l'origine géographique du maïs, aujourd'hui nettement établie, a fait l'objet de longues discussions entre les botanistes. Il est actuellement reconnu que cette céréale est d'origine américaine, et qu'elle était, par conséquent, inconnue dans le vieux monde avant les voyages de Christophe Colomb.

Jusqu'à la fin du XVIII^e siècle, de nombreux auteurs se sont cependant efforcés d'établir que le maïs était déjà connu et cultivé par les Romains et que l'on devrait rechercher ses origines en Asie.

Cette affirmation figure dans les œuvres de quelques humanistes du XVI^e siècle. L'influence grecque et latine s'est, à cette époque, exercée sur les sciences naturelles, et les œuvres de Dioscoride, de Théophraste, de Pline, furent à maintes reprises recopiées, traduites et interprétées.

En comparant les ouvrages anciens, à leurs propres observations, les savants de la Renaissance ont en réalité créé de nouvelles œuvres. Cette évolution a, par suite, favorisé quelques malentendus, dans l'interprétation des textes anciens et on peut signaler la question de l'origine du maïs comme un exemple de ces confusions involontaires.

En 1536, Johannes Ruellius¹ dans son « *de natura Stirpium* », où il signale toutes les plantes connues à cette époque, s'efforça d'établir l'identité des plantes qu'il dé-

1. Johannes RUELLIUS : *de Natura Stirpium*. Paris, 1536, p. 539.

crit avec les plantes que mentionnent les auteurs grecs et latins.

Ainsi, il nomma Maïs « *turcicum frumentum* » (Blé de Turquie), une plante qu'il crut d'origine asiatique et supposa avoir retrouvé dans l' « *Histoire du Monde* », de Pline, sous le nom de « *Irio* » ou « *Erysimum* ».

A la même époque, Léonhardt Fuchs² donna la description d'une céréale, qu'il désigna sous le nom de *Bled de Turquie* ou « *bled sarrazin* ». « Ce bled, come plusieurs autres, est du nombre de ceux qu'on nous a apporté d'un estrange pays. Il vient de Grèce et d'Asie en Alemaigne, et de là on l'appelle Bled de Turquie. »

Il estima en outre, que ce blé avait été décrit par Dioscoride sous le nom de *Zeia* et était signalé par Pline dans le passage suivant : « Depuis quelques années on nous a apporté des Indes une sorte de millet, gros de grain, qui a sa tige faite à la mode de roseaux. Les tuyaux de ce millet sont quelquefois de la hauteur de sept pieds. Il n'y a blé qui rapporte plus que celui. »

Matthiolo³, s'élevant contre la théorie de l'origine asiatique du maïs, s'efforça de démontrer que le maïs provenait des Indes occidentales, et que l'*Irio* décrit par Pline, et la *Zeia* de Dioscoride, ne présentant aucune ressemblance possible avec le maïs, désignaient des plantes différentes.

L'*Irio* est décrit par Pline comme une petite plante aux feuilles rouges et aux fleurs jaunes, dont nulle bête ne mange les feuilles quand elles sont vertes ; Matthiolo fit remarquer que les feuilles vertes du maïs fournissent un fourrage très apprécié et que ce fait suffit pour détruire les hypothèses de Ruellius.

Selon Matthiolo⁴, la description donnée par Pline et dans laquelle Fuchs a cru retrouver celle du maïs serait celle de la *Zeia* de Dioscoride, c'est-à-dire celle de l'épeautre.

« Si notre espeaultre n'est pas la Zeia de Dioscoride et

2. L. FUCHS : *Commentaires très excellents de l'Histoire des plantes*, traduits en français par Eloy Maignan. Paris, 1549, ch. CCCXIX.

3. MATTHIOLE : *Commentaires de M. Pierre-André Matthiolus*, traduits en français par A. du Pinet. Lyon, 1561, pp. 167-204.

4. Petri-Andreae MATTHIOLI: *Commentarii*. Venise, 1558, p. 251.

le millet de Pline, il n'y a point de blé en Italie, qu'on puisse rapporter à Zeïa. Toutefois, la description qu'en fait Dioscoride, montre bien que c'est notre espeaultre. »

Ces quelques indications semblent montrer que les auteurs grecs et latins n'ont pas donné la description du maïs ; s'ils l'avaient connu, étant donné sa fertilité remarquable, ainsi que son aspect caractéristique, ils l'auraient vraisemblablement mentionné.

L'incertitude sur l'origine géographique, provoquée par les discussions entre Ruellius, Fuchs et Matthiöle, subsista jusqu'au xix^e siècle.

Desplaces⁵ écrivait encore en 1810, que le maïs était cultivé par le peuple romain.

En 1833, Duchesne⁶, l'auteur d'un « Traité du Maïs » ne put élucider la question, mais, rapportant les opinions des auteurs de la Renaissance, il sembla admettre plutôt la vraisemblance de la thèse soutenue par Matthiöle.

Cependant, alors que le maïs se répandait dans les pays d'Europe, jouissant d'un climat tempéré, des historiens et des botanistes avaient attribué à cette céréale une origine américaine.

Joseph de Acosta⁷, en 1590, et, plus tard, Jean de Laet⁸, décrivirent en détail la culture et l'emploi du maïs dans les nouvelles colonies espagnoles. D'après eux, cette plante aurait toujours occupé une place importante dans l'agriculture des populations indigènes. Ils firent connaître à leurs compatriotes, qui connaissaient encore assez peu le maïs, tous ses avantages et ses emplois multiples.

Vers la fin du xvi^e siècle, le maïs fut introduit en France, sa culture resta d'abord localisée dans la partie méridionale et c'est aux efforts de Parmentier⁹ qu'est due l'extension de sa culture.

« Il serait important, écrivit-il, de rendre la culture du maïs plus générale, dans les parties méridionales et tem-

5. M. DESPLACES : *Histoire de l'agriculture ancienne*. Paris, 1810.

6. E.-A. DUCHESNE : *Traité du Maïs*. Paris, 1833.

7. Joseph de ACOSTA : *Historia natural y moral de las Indias*. Sevilla, 1590.

8. Jean de LAET : *Histoire du Nouveau Monde*. Leyde, 1640, p. 238.

9. A.-A. PARMENTIER : *Œuvres diverses d'économie rurale. Instructions sur la culture et les usages du maïs*. Paris 1785.

pérées de la République. Le grain a amené dans les cantons qui l'ont adopté, une richesse qu'on n'y connaissait point lorsqu'on n'y semait que du froment et du millet. »

En 1812, Parmentier ¹⁰, publiant un ouvrage entièrement consacré à cette céréale, se déclara nettement pour son origine américaine. Il signale que les indigènes de Saint-Domingue, offrirent du maïs aux navigateurs espagnols, lors de leur débarquement, et que ceux-ci ont retrouvé la plante pendant leur voyage aux Antilles, au Mexique et au Pérou et qu'elle était partout la base de la nourriture des indigènes.

De Humboldt ¹¹ et Montesquieu ¹² citent le maïs comme plante originaire du nouveau continent : « Ce qui fait, écrit Montesquieu, qu'il y a tant de nations sauvages en Amérique, c'est que la terre y produit elle-même des fruits dont on peut se nourrir. Si les femmes y cultivent autour de leur cabane un morceau de terre, le maïs y vient d'abord, la chasse et la pêche achèvent d'y mettre les hommes dans l'abondance. »

A partir de cette époque le nombre de ceux qui attribuent au maïs une origine latine ou asiatique diminue sans cesse, et les précis de botanique et de matière médicale ont définitivement attribué une origine américaine à cette plante.

Mérat et de Lens ¹³, Planchon et Collin ¹⁴, Tschirch ¹⁵, adoptent nettement cette opinion et il est actuellement admis que le maïs a été introduit en Espagne par Christophe Colomb qui l'a apporté en 1493, lors de son premier voyage en Amérique. Ainsi que l'ont montré les découvertes d'anciens tombeaux dans l'Arizona et l'Ankona, il était déjà connu depuis longtemps des indigènes du nouveau monde. Les populations du Mexique vénéraient même le maïs sous la forme d'une divinité.

10. A.-A. PARMENTIER : *Le maïs ou blé de Turquie apprécié sous tous ses rapports*. Paris, 1812.

11. De HUMBOLDT : *Voyage aux Régions équinoxiales*. 1822, t. III, pp. 16, 396.

12. MONTESQUIEU : *Esprit des Lois*, 1827, livre VII, ch. IX, p. 181.

(13. MERAT et de LENS. *Dict. Mat. méd.*, 1834.

14. PLANCHON et COLLIN : *Les drogues simples*, 1895, I, pp. 115-116.

15. A. TSCHIRCH : *Handbuch der Pharmacognosie*, 1909, I, 754; II, 194, 197.

Il est cependant aujourd'hui encore, impossible de préciser le pays natal du maïs sur le continent américain.

La plante que l'on connaît actuellement partout serait une forme cultivée. Ainsi que l'ont montré les essais de Benito Toledo, la plante cultivée résulterait de la transformation d'une autre plante qui pousse à l'état spontané.

L. Blaringham¹⁶ a démontré que le maïs, qui était considéré par Linné comme une espèce authentique, n'était qu'un hybride naturel du *Téosinte*, (*Euchleana mexicana* Schrad), et d'une autre graminée appartenant probablement à la tribu des Andropogonées.

L'auteur fait remarquer que le maïs a été trouvé dans les régions où le *Téosinte* pousse à l'état sauvage. D'autre part, le maïs et le *Téosinte* peuvent être interfécondés et les graines issues de ce croisement donnent des plantes dont les inflorescences femelles ont une forme intermédiaire entre le téosinte et le maïs.

Le maïs, comparé aux autres graminées sauvages, doit être considéré comme une monstruosité qui ne peut exister sans l'intervention humaine ; en effet, ses graines sont fixées sur un axe charnu entouré de bractées qui ne peuvent se détacher spontanément, et cette plante qui n'a jamais été connue à l'état spontané, ne peut vivre qu'en culture.

De Toledo^{16a} a réussi à transformer le *Téosinte*, qui, pousse spontanément dans les régions tropicales de l'Amérique du Sud, en une plante portant toutes les caractéristiques du *Zea maïs*. L'auteur a pu suivre les différentes étapes de la métamorphose du *Teosinte* en *Zea maïs*. Il est à remarquer que la transformation ne se produit que sous le climat tropical du lieu d'expérimentation, et il croit avoir trouvé dans *Euchleana mexicana* la forme primitive du *Zea maïs*.

16. L. BLARINGHEM: *Ann. Sc. nat. bot.* 1924, 6, p. 245.

16 a. Dans 16.

CHAPITRE II

Emploi du maïs et des styles en thérapeutique.

Les ouvrages anciens sur les plantes médicinales renferment peu de renseignements sur l'emploi du style de maïs en médecine. Quand il est question du *Zea maïs* chez ces auteurs, ils se rapportent, soit à la plante entière, soit seulement à la farine des graines de maïs.

Fuchs², parlant des vertus du maïs, nous dit brièvement : « Comme ainsi soit qu'il aie quasi telle température que le froment, il est nécessaire qu'il aie aussi pareilles facultés. »

La traduction française des commentaires de Matthioli de 1572¹⁷ contient une description du maïs et des styles, mais ne révèle rien sur leur emploi éventuel en médecine.

Les Espagnols et les Portugais qui explorèrent le nouveau continent s'étaient aperçus que les indigènes préparaient de nombreux médicaments avec les différentes parties du maïs.

S'ils n'adoptèrent pas ces médicaments, peut-être par scepticisme, peut-être par méfiance, les navigateurs durent cependant les signaler à leur retour.

C'est ainsi qu'en 1640, Jean de Laet⁸ nous renseigne dans un récit minutieux sur les facultés et les divers usages du maïs chez les populations indiennes.

Les indigènes utilisaient alors principalement les graines, la tige et les racines.

Dès le début, l'auteur s'élève contre les préjugés des européens qui attribuent au maïs la propriété « d'engendrer des obstructions ». Il nous raconte que les sauvages qui

17. *Commentaires* de M. P.-A. MATTHIOLE; trad. en français par A. du Pinet. Lyon, 1572, p. 175.

en mangent beaucoup, digèrent aisément, ont un appétit remarquable, et ne sont jamais pâles de visage.

Dans une louange exaltée, il nous apprend qu'il n'y a pas un remède plus excellent que le maïs contre les maladies aiguës. Une macération de la poudre des racines dans l'eau « adoucit la poitrine et tempère la chaleur des fièvres ».

Il indique les recettes de la préparation de « l'atole » qui jouit d'une grande importance dans les ménages mexicains, où ce mets sert aussi bien de nourriture que de médicament.

« L'atole » est de la farine de maïs bouillie avec de l'eau. Quelques-uns y ajoutent de la chaux. Ce plat nourrit fort bien, corrobore et engraisse les corps débiles, restaure les forces et nettoie aucunement. Il peut être donné sans crainte aux malades aussi bien qu'aux sains. On dit en outre qu'il provoque l'urine et nettoie les conduits. »

D'autres encore préparent « l'atole » en y ajoutant une sorte de boisson alcoolique et du sel. On lui attribue alors la faculté « d'exciter les appétits vénériens ».

Un « atole » de goût aigre se prépare avec du maïs qu'on a laissé fermenter pendant quelques temps. « Cette espèce se prend à jeun pour nettoyer le corps, car il élimine l'urine et lasche le ventre. »

Un « atole » dans lequel on a fait cuire des fèves et certaines herbes est, paraît-il, excellent « pour fortifier la poitrine à ceux qui ont courte haleine ».

Les indigènes préparent également avec les graines du maïs vert ou mûr, des décoctions qu'ils mélangent à des liquides alcooliques. Ces boissons « sont fortifiantes et excitent Vénus provoquant l'urine et les mois ».

Les tiges fournissent un miel très apprécié et les cendres des tiges mélangées avec de la térébenthine donnent un remède admirable contre les maux de tête.

Ces quelques fragments du livre de Jean de Laet, indiquent que les Indiens attribuaient au maïs les propriétés thérapeutiques les plus diverses.

Seuls les styles, qu'ils désignaient sous le nom de Xolotl-

zontli (Xolotl : nom d'une divinité mexicaine et Zontli : cheveux) ainsi que le signale L. Diguët¹⁸, semblent ne jouer aucun rôle dans leur art de guérir.

En Europe, le style de maïs est signalé pour la première fois comme médicament par Lemery¹⁹ dans le *Traité universel des drogues simples*. Il est cité comme fournissant une « tisane apéritive propre pour exciter l'urine, pour la colique néphrétique, pour adoucir l'âcreté des humeurs ».

La Pharmacopée universelle du même auteur ne renferme cependant aucune mention concernant cette drogue.

Il semble que les propriétés diurétiques de cette partie de la plante, admises depuis longtemps dans la médecine populaire, n'aient pas été facilement reconnues par la médecine officielle.

Déjà en 1741, François Geoffroy²⁰ écrivait en parlant du maïs : « *Nullus aut rarissimus est usus in medicina.* » Cette opinion, confirmée par Mérat et de Lens¹³, se retrouve dans les traités de Matière médicale qui ne renferment que de brèves notices sur la drogue.

On constate, en outre, que les opinions sur les propriétés thérapeutiques des styles de maïs sont des plus contradictoires.

Dechambre²¹ préconise leur emploi en infusion ou en décoction contre l'anurie et la gravelle, en faisant remarquer toutefois que les essais sont assez peu concordants.

Baillon²² admet que les styles guérissent la cystite, le catarrhe vésical et la gravelle, et, deux ans plus tard, Cazin²³ publiant les résultats de ses constatations, déclare que la drogue était sans valeur thérapeutique dans les affections des voies urinaires.

D'après Pouchet²⁴, l'infusion de styles de maïs est non

18. L. DIGUËT : *Journal des américanistes de Paris*, 1910, 7, 5 à 35.

19. N. LÉMERY : *Traité universel des drogues simples*. Paris, 1698, 472.

20. S.-F. GEOFFROY : *Tractatus de Materia medica*. Paris, 1741, 3, 830.

21. DECHAMBRE : *Dict. sc. méd.* Paris, 1869, 91, 90.

22. BAILLON : *Traité de botanique médicale*. Paris, 1884, 2, 1374.

23. F.-J. CAZIN : *Traité pratique des plantes médicinales indigènes*. Paris, 1886, 1187.

24. POUCHET : *Précis de Pharmacologie*. Paris, 756.

seulement diurétique, mais encore analgésiante, grâce à une huile volatile actuellement peu étudiée.

Malgré la diversité des opinions, concernant son efficacité comme diurétique, la drogue a été admise dans certaines Pharmacopées officielles.

Introduite pour la première fois dans le Codex français de 1884, sous la forme d'infusion (10 gr. par litre), elle figure encore dans les Pharmacopées anglaise, argentine, brésilienne, espagnole, française, hollandaise, mexicaine et suisse.

Nous résumerons brièvement les indications qu'elles renferment :

Pharmacopée anglaise — *The British Pharmacopœia* (1932) ne renferme aucune indication concernant le maïs, mais *The British Pharmaceutical Codex* 1934 consacre un très bref paragraphe aux styles, à l'extrait fluide, et au sirop, signalant que ces médicaments sont émollients et diurétiques mais ne sont plus guère employés.

La Pharmacopée argentine (1928) décrit les styles p. 361, en signalant qu'ils doivent fournir 26 p. 100 d'extrait aqueux et elle donne le procédé de préparation d'un extrait fluide à poids égaux obtenu avec de l'alcool à 60°.

La Pharmacopée brésilienne (1929) indique brièvement que les styles sont utilisés en tisane et également sous forme d'extrait sec et d'extrait fluide.

La Pharmacopée espagnole (1930) exige que le style soit récolté avant la fécondation, sans doute en vue d'un bel aspect de la drogue, en évitant l'action des oxydases, mais ne donne aucune indication sur l'utilisation possible de la drogue.

Le Codex français (1908) donne la description du style de maïs, avec lequel on peut préparer une infusion (10 gr. par litre). On y trouve également mentionné un extrait mou, obtenu par traitement de la drogue par l'eau, et un sirop obtenu par dissolution de l'extrait mou dans le sirop de sucre (20 gr. de sirop renferment 0,25 gr. d'extrait).

La Pharmacopée hollandaise (1936) a fixé pour la drogue un maximum de 12 p. 100 de cendres.

Nos essais personnels montrent que cette valeur paraît très élevée et les résultats que nous avons obtenus, ainsi que nous l'indiquerons plus loin sont de beaucoup inférieurs. Cette pharmacopée fait préparer un extrait hydro-alcoolique, mais ne donne pas d'indications sur l'emploi du produit galénique.

Dans la *Pharmacopée mexicaine*, après une description des styles de maïs, il est signalé que l'infusion à raison de 30 gr. par litre, possède des propriétés diurétiques. Cette infusion, contre-indiquée en cas de cystite aiguë, devrait son action thérapeutique à un « acide maïzé-nique ». Nous parlerons plus loin de ce corps cristallisé isolé par Rademaker et Fischer ²⁵.

Dans la *Pharmacopée suisse* (1934), le style de maïs n'est utilisé que sous la forme des « Species anticystiticae ». Ces espèces diurétiques sont composées d'un mélange à poids égaux de feuilles de bouleau, d'uva-ursi, de styles de maïs, de rhizomes de chiendent et de racine de réglisse.

Les indications fournies actuellement par les diverses Pharmacopées, montrent que cette drogue paraît utilisée pour ses propriétés diurétiques.

Les formes galéniques sont obtenues par traitement des styles, soit par l'eau, soit par un mélange hydro-alcoolique.

Il semble cependant que l'abandon, qui a en partie frappé cette drogue, provient du fait que son action, trop louée par certains, a été difficilement admise par d'autres expérimentateurs. Les travaux qu'elle a jusqu'ici suscités n'ont pas permis de déceler le ou les principes, auxquels on aurait pu attribuer son activité thérapeutique.

25. RADEMAKER et J.-L. FISCHER : *Amer. J. of Pharm.* 1886, 58, 369.

CHAPITRE III

Résumé des travaux antérieurs sur la composition chimique des styles de maïs.

Les travaux publiés sur ce sujet ont jusqu'ici été peu nombreux.

La première analyse fut faite en 1881 par un pharmacien belge, H. Vassal²⁶. Par traitement des styles par l'eau chaude, il obtint un extrait de couleur brun rougeâtre, rappelant l'odeur de l'extrait d'ergot de seigle. Cet extrait aqueux, évaporé à sec au bain-marie, est partiellement soluble dans l'alcool à 63 p. 100.

La partie soluble dans l'alcool, constitue, après évaporation du dissolvant, un résidu granuleux possédant des propriétés physiques semblables à celles de l'ergotine. Sans indiquer d'autres précisions, l'auteur conclut que ce corps est le principe actif de la drogue.

Par épuisement direct des styles par l'alcool à 63 p. 100, Vassal obtint un extrait dont il retira, après épuisement par l'éther, une matière grasse, huileuse, saponifiable par la potasse caustique.

L'extrait alcoolique dégraissé par l'éther était identique à l'extrait aqueux qu'il avait déjà étudié ; c'est une masse amère, à odeur animalisée, qui, après calcination, renferme une forte quantité de carbonate de sodium.

Par épuisement de l'extrait aqueux ou de l'extrait alcoolique par le chloroforme, on ne retire pas la moindre trace d'alcaloïde.

On peut résumer cette étude en disant que Vassal a attribué l'action diurétique à un mélange assez peu défini.

En 1886, deux chimistes américains, C.-J. Rademaker et J.-L. Fischer²⁵ reprirent l'étude de cette question.

26. H. VASSAL : *Journ. Pharm. Anvers*, 1881, 37, 153.

Ils épuisèrent 50 grammes de styles de maïs, successivement avec l'éther de pétrole, l'éther, l'alcool absolu, l'eau, la soude caustique à 2 p. 100 et l'acide chlorhydrique à 2 p. 100.

L'extrait obtenu à l'aide de l'éther de pétrole (5,25 p. 100) est une huile de couleur jaune, se solidifiant à 50° Fahrenheit, soluble dans le chloroforme, l'éther de pétrole, insoluble dans l'alcool et que la potasse caustique peut saponifier.

L'extrait éthéré (2,25 p. 100) contient 1,25 p. 100 de résine et de chlorophylle. Une partie (1 p. 100) est soluble dans l'eau et possède une réaction acide.

Par recristallisation dans l'éther, les auteurs ont isolé ce corps acide, sous la forme de cristaux incolores.

De l'extrait alcoolique débarrassé des résines et des matières colorantes, ils ont également retiré le même produit.

Ce corps est facilement soluble dans l'eau, l'éther et dans l'alcool, mais insoluble dans l'éther de pétrole. Il décompose les carbonates alcalins et donne des sels cristallisés. Les auteurs nomment cet acide « *acide maïzénique* » et le considèrent comme étant le principe actif des styles de maïs.

Nous avons signalé au chapitre précédent que les pharmacopées anglaise et mexicaine semblaient avoir adopté l'acide maïzénique comme principe diurétique des styles de maïs.

Le traitement des styles par l'eau donne, signalent Rademaker et Fischer, 19,5 p. 100 d'extrait aqueux constitué par des sucres, des gommes et des matières extractives.

L'extraction en milieu alcalin fournit des albumines et des phlobaphènes ; l'épuisement acide conduit à des sels minéraux.

Les recherches bibliographiques que nous avons faites au sujet de l'acide maïzénique, montrent que les auteurs américains désignent sous ce nom un composé assez mal défini.

Ils n'ont donné aucune indication sur les propriétés physiques de cet acide ; les détails qu'ils fournissent signalent simplement que ce corps donne des cristaux inco-

lores peu nets, solubles dans l'eau, l'éther ou l'alcool, et que par son caractère acide il décompose les carbonates alcalins.

Il est assez malaisé d'imaginer sans des données plus complètes ce que peut être en réalité cet acide.

Nous verrons dans le cours de l'exposé de notre travail que nous n'avons jamais retrouvé cet acide maïzénique et que jamais par simple recristallisation d'un des produits que nous avons obtenus par traitement par un solvant, nous n'avons obtenu directement un composé pur et nettement défini.

Les styles de maïs ont donné lieu à deux publications que nous signalerons brièvement, puisqu'elles s'écartent de notre sujet étant relatives aux ferments.

Rosenthaler ²⁷ a retiré des styles de maïs une émulsion qui possède deux propriétés particulières : elle hydrolyse l'amygdaloside et provoque par synthèse la formation d'oxynitriles optiquement inactifs, si on la met en contact d'un mélange d'un aldéhyde et d'acide cyanhydrique.

G. Doby ²⁸ a signalé la présence dans les styles de maïs frais d'une peroxydase et d'une oxygénase. C'est à elles que seraient dus les changements de coloration des styles après la fécondation.

L'oxygénase est toujours présente dans les styles.

La teneur en peroxydase n'est pas constante et augmente avec la croissance de la plante. Cette peroxydase est sensible à l'action de l'eau oxygénée. On peut la précipiter du suc de la plante, sous la forme de purpurogalline, par addition au suc non stabilisé de pyrogallol et d'eau oxygénée.

Nous terminons cet exposé en signalant un travail paru en 1934, et dont les conclusions concordent en partie avec les résultats de notre propre travail.

L'auteur Josip Miksic ²⁹ a analysé l'extract obtenu par épuisement des styles de maïs par l'éther.

Il a principalement étudié la partie insaponifiable de

27. ROSENTHALER : *Arch. d. Pharm.* 1913, 251, 56.

28. G. DOBY : *Biochem. Z.* 1914, 64, 111.

29. Josip MIKSIC : *Chem. Zentralblatt.* 1914, 1, 1507.

la matière grasse obtenue, qui est en majorité composée de stérols.

L'épuisement des styles par l'éther lui a fourni 2,43 p. 100 de matière grasse renfermant 26,6 p. 100 de matières insaponifiables (dont le cinquième constitué par des stérols).

Ces stérols existent dans les styles en partie sous forme libre, en partie sous forme d'esters.

L'auteur conclut que le stérol isolé par lui existe seul dans la plante. Il fond à 139° ; $[\alpha]_D^{20} = -32^{\circ}1$ dans le chloroforme et donne un acétate fondant à $127-128^{\circ}$.

Miksic croit que ce stérol est identique au β -sitostérol isolé de l'huile de maïs par Anderson et Shriner³⁰.

L'examen des résultats auxquels ont abouti les travaux que nous avons résumés, montrent que les conclusions des divers auteurs ne sont guère en accord.

Pour les uns le principe actif serait un corps azoté dont l'odeur rappelle celle de l'ergotine, et qui a été isolé sous la forme d'extrait coloré assez mal défini; pour d'autres l'activité serait due à un prétendu acide maïzéniqne, pour lequel peu de précisions sont fournies par l'auteur.

Remarquons enfin que les travaux les plus récents sur la recherche de ce principe diurétique remontent à 1886 et que la curiosité de notre maître, M. le Professeur A. Goris pouvait ainsi se justifier.

30. ANDERSON et SHRINER: *J. amer. chem. Soc.* 1926, 48, 2976.

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE IV

Analyse des cendres de styles de maïs.

L'analyse des cendres obtenues à partir des styles de maïs n'a pas encore été faite, à notre connaissance.

En général, la valeur thérapeutique d'une plante médicinale ne dépend pas éventuellement de la composition chimique de ses cendres. Mais lorsqu'il s'agit de déceler le principe actif d'une drogue diurétique, cette analyse prend une importance primordiale.

Il suffit, en effet, de rappeler que l'on rapporte les propriétés diurétiques de la racine de chiendent et des feuilles de buchu, à l'oxalate de calcium, des queues de cerises et des sommités fleuries des borraginées aux sels de potassium et calcium, sans méconnaître cependant que toutes ces drogues, comme les styles de maïs d'ailleurs, sont utilisées sous forme de tisanes, c'est-à-dire comportent l'absorption d'un grand volume d'eau chaude.

Les styles de maïs du commerce étant toujours souillés de poussières diverses et de grains de sable, il est élémentaire d'éviter ces causes d'erreurs qui retentiraient principalement sur le dosage de la silice. Pour remédier à cet inconvénient, nous avons cueilli nous-mêmes, avec les précautions nécessaires, la matière première.

a) Analyse qualitative.

Dans une analyse préliminaire, nous avons établi la composition qualitative des cendres du style de maïs. Sans

entrer dans le détail de cette analyse, réalisée par les méthodes classiques, nous en donnerons simplement le résultat.

Les cendres renferment :

Cations :

Potassium,
Sodium,
Calcium,
Magnésium,
Fer,
Aluminium.

Anions :

Chlore,
Sulfurique,
Phosphorique,
Silicique,
Carbonique,

Quelques éléments olygodynamiques présentant un grand intérêt en biologie végétale, tels que le cuivre, le nickel, le cobalt, le zinc et le titane n'ont pu être caractérisés par les méthodes utilisées ; s'ils sont présents leur quantité est infinitésimale.

b) Analyse quantitative.

Après cette rapide analyse qualitative, nous avons procédé à l'analyse quantitative de la façon suivante :

5 kg. de styles de maïs frais ont d'abord été séchés dans un courant d'air chaud.

On obtient ainsi 720 grammes de styles secs, soit une perte de 85 p. 100 par simple dessiccation.

Les styles secs obtenus sont brûlés par portions d'une cinquantaine de grammes à une température pas trop élevée (rouge sombre) afin d'obtenir des cendres noires. On obtient de la sorte : 89,5 grammes.

Il est nécessaire de ne pas dépasser le rouge sombre

afin d'éviter la volatilisation des chlorures et ceci oblige à s'arrêter ainsi à la formation de cendres noires.

Ces cendres noires sont séparées à ce stade en cendres solubles dans l'eau, en cendres insolubles dans l'eau et en silice par le traitement suivant :

Les cendres noires sont reprises trois fois par l'eau bouillante. On filtre après chaque extraction. Le résidu insoluble est séché et recalciné à basse température. Le résidu insoluble dans l'eau (A) est séparé par filtration. Les quatre solutions aqueuses sont groupées. C'est un liquide fortement alcalin, coloré en brun foncé par la présence de goudrons. Cette solution est évaporée à sec ; son résidu après recalcination à basse température, est redissout dans l'eau bouillante. Il reste un petit résidu insoluble (B) qui est ajouté au résidu A.

La solution aqueuse est alors limpide, presque incolore, fortement alcaline. Cette solution est complétée au volume d'un litre par de l'eau distillée. Elle renferme tous les sels solubles dans l'eau.

Les cendres insolubles dans l'eau, constituées par les résidus A et B sont reprises par un mélange de 100 cc. d'acide chlorhydrique concentré, 400 cc. d'eau distillée et 10 cc. d'acide nitrique. Après ébullition, la plus grande partie de la silice se dépose à l'état impur, souillée par du charbon. On la sépare par filtration (résidu C). La solution acide est évaporée à sec au bain-marie. Son résidu est par deux fois additionné de 20 cc. d'acide chlorhydrique concentré et chaque fois évaporé à sec. Par ce traitement, on sépare encore un peu de silice (résidu D).

Le résidu C, constitué d'une silice très impure est repris par un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique pur et évaporé au bain-marie.

La silice purifiée qui en résulte est jointe au résidu D.

Ce mélange (C+D) est épuisée par l'eau chlorhydrique à l'ébullition.

La partie restant insoluble après ce traitement est constituée par de la silice, souillée par un peu de charbon. On sèche ce résidu.

La partie soluble dans l'eau chlorhydrique est constituée par des sels minéraux qui sont insolubles dans l'eau,

mais solubles dans les acides. Cette solution acide est complétée à un volume de 250 cc.

Par le procédé décrit, nous avons donc séparé les cendres totales de 5 kg. de styles de maïs en :

1° Cendres solubles dans l'eau (solution aqueuse, alcaline complétée à un litre).

2° Cendres insolubles dans l'eau (solution chlorhydrique complétée à 250 cc.).

3° Résidu insoluble dans les acides concentrés : Silice.

Cette séparation une fois réalisée, nous avons procédé au dosage des différents éléments, caractérisés par l'analyse qualitative. Certains de ces éléments, tel le chlore de la solution aqueuse, se trouvent en totalité dans une des deux solutions ; d'autres, comme le phosphore, seront répartis entre les deux solutions.

La solution des cendres solubles dans l'eau contient :



La solution acide des cendres insolubles dans l'eau renferme : Ca, Mg, Fe, Al, H^3PO^4 .

Le résultat rapporté ici pour chaque dosage, correspond toujours à un chiffre moyen, basé sur plusieurs dosages.

1° *Alcalinité de la solution aqueuse.*

La forte réaction alcaline des cendres solubles dans l'eau est surtout due à la présence de carbonates alcalins. On dose l'alcalinité avec une solution de 0,1 N HCl en présence du réactif de Topfer (diméthylamidoazobenzol) comme indicateur :

10 cc. de la solution sont neutralisés par 29,65 cc. 0,1 N HCl.

2° *Dosage des sulfates.*

Les sulfates se trouvent dans la solution aqueuse des cendres. Ils sont dosés par voie gravimétrique sous forme de Ba SO^4 :

Prise d'essai : 50 cc. de la solution aqueuse.

Pesée : 0,243 gr. de Ba SO^4 .

Calculé en soufre : 0,03337 g./50 cc.

Soit : 0,667 g./litre.

Calculé en H^2SO^4 : 0,1022 g./50 cc.

Soit : 2,044 g./litre.

Les sulfates calculés pour un litre représentant le soufre total des cendres de 5 kg. de styles de maïs.

3° *Dosage des chlorures.*

Les chlorures se trouvent entièrement dans la solution aqueuse des cendres.

On prélève 5 cc. de la solution aqueuse ; on y ajoute 5 cc. d'acide nitrique et 40 cc. d'eau distillée.

Les chlorures sont précipités par 10 cc. d'une solution de 0,1 N Ag NO^3 .

L'excès de Ag NO^3 est titré par une solution 0,1 N de SCN NH^4 :

Ag mis en réaction : 0,10788 g.

Ag en excès : 0,06851 g.

Ag précipitant le Cl : 0,03937 g. = 0,01294 g. Cl/5 cc.

Soit : 2,588 g. Cl/litre.

Ce chiffre représente le poids des chlorures totaux dans les cendres.

4° *Dosage du phosphore.*

a) *Dans la solution des cendres solubles dans l'eau.*

Le phosphore peut être précipité directement sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien ($\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$).

50 cc. de la solution alcaline sont additionnés d'un excès du réactif ammoniaco-magnésien. Le mélange est abandonné à la glacière afin d'obtenir un précipité cristallin, puis on filtre. Par calcination, le phosphate ammoniaco-magnésien est transformé en pyrophosphate $\text{P}^2\text{O}^7\text{Mg}^2$, que l'on pèse.

Prise d'essai : 50 cc.

Pyrophosphate : 0,4705 g.=0,131 g. de phosphore.

Soit : 2,622 g. de phosphore dans les cendres solubles.

b) Dans la solution des cendres insolubles dans l'eau.

La présence de Ca, Mg, Fe, Al, dans cette solution nous oblige à isoler le phosphore d'abord à l'état de phosphomolybdate d'ammonium :

10 cc. de la solution acide sont évaporés à sec pour éliminer l'acide chlorhydrique. Le résidu est repris par l'acide nitrique et additionné d'un grand excès de molybdate d'ammonium. Après 24 heures, le précipité de phosphomolybdate d'ammonium est séparé par filtration. Dans le filtrat, nous dosons : Fe, Ca, Mg.

Le précipité est lavé et redissout dans l'ammoniaque. On reprécipite le phosphore à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien, comme nous l'avons indiqué dans le premier cas (a).

Prise d'essai : 10 cc.

Pyrophosphate : 0,1640 g. = 0,0457 g. de phosphore

Soit : 1,142 gr. de phosphore dans les cendres insolubles.

Le phosphore total dans les cendres (a+b) pèse donc 3.764 gr. Il est à croire qu'une grande partie de ce phosphore existe dans la plante sous forme de phosphore organique.

5° Dosage du fer.

Le filtrat du précipité phosphomolybdique (voir dosage du phosphore dans les cendres insolubles dans l'eau) est additionné d'ammoniaque et de chlorure d'ammonium.

Les hydroxydes de fer et d'aluminium précipitent. On sépare le précipité par filtration. Ce filtrat servira pour le dosage du calcium et du magnésium. Les hydroxydes de Fe et de Al sont dissouts dans l'eau régale.

Cette solution est évaporée à sec à plusieurs reprises en présence d'acide sulfurique. Il résulte de cette opération un mélange de $(\text{SO}_4)^3 \text{Fe}^2$, et de $\text{Al}^2 (\text{SO}_4)^3$. Le sel ferrique est ensuite réduit par du zinc pur, en présence de 30 cc. d'eau + 5 cc. $\text{H}^2 \text{SO}_4$ + 1 cc. $\text{H}^3 \text{PO}_4$ 85 p. 100. Le sel ferreux est dosé par une solution de 0,1 N KMnO_4 .

On s'assure par un dosage témoin que les réactifs em-

ployés ne renferment pas eux-mêmes d'impuretés réductrices.

Prise d'essai : 10 cc.

0,1 N KMnO^4 : 0,33 cc. = 1,85 mg. Fe.

Soit : 0,0462 gr. de Fe dans les cendres totales.

6° *Dosage du calcium.*

Le filtrat débarrassé du fer et de l'aluminium (voir dosage du fer) est acidulé par l'acide acétique. Le calcium est ensuite précipité à l'état d'oxalate et séparé par filtration après refroidissement pendant 24 heures. Le filtrat renferme encore le magnésium.

Le précipité oxalique est redissous dans l'acide sulfurique et dosé par une solution de 0,1 N KMnO^4 :

Prise d'essai : 10 cc.

0,1 N KMnO^4 : 20,05 cc. = 0,04018 gr. de Ca.

Soit : 1,004 gr. de Ca dans les cendres totales.

7° *Dosage du magnésium.*

Dans le filtrat débarrassé de l'oxalate de calcium on dose le magnésium.

La solution acide est alcalinisée par l'ammoniaque et additionnée d'acide phosphorique. On laisse reposer 24 heures à la glacière et on sépare le magnésium à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien. Ce résidu est séché et calciné. On pèse le pyrophosphate de magnésium.

Prise d'essai : 10 cc.

$\text{P}^2\text{O}^5\text{Mg}^2$: 0,2183 gr. = 0,0477 gr. de Mg.

Soit : 1,192 gr. de Mg dans les cendres totales.

8° *Dosage du potassium et du sodium. — Dosage de la silice solubilisée.*

Tous les sels potassiques sont dans la solution des cendres solubles dans l'eau. La solution renferme également les sels de sodium. Pour isoler le bloc sodico-potassique, nous opérons comme suit :

50 cc. de la solution alcaline sont traités par 1 cc. d'eau de brome en présence de 5 cc. d'acide chlorhydrique. Les

sulfures qui peuvent être présents sont oxydés à l'état de sulfates.

La solution est ensuite rendue alcaline par l'ammoniaque. On ajoute un excès d'acide acétique et précipite l'acide phosphorique et la majeure partie de l'acide sulfurique par l'acétate de plomb³¹. Le précipité est filtré et lavé. Le filtrat est concentré et acidulé par l'acide chlorhydrique (violet de méthyle : vert). Par un courant d'hydrogène sulfuré, le plomb est précipité à chaud. On laisse reposer pendant 24 heures. Le filtrat débarrassé du sulfure de plomb est concentré. Après élimination des dernières traces d'acide sulfurique à l'état de sulfate de baryum, le baryum en excès est éliminé à chaud par un courant de gaz carbonique. La solution limpide est évaporée à sec. Le résidu est calciné modérément pour chasser les sels ammoniacaux. Repris par l'eau additionnée d'une goutte d'acide chlorhydrique, il ne se dissout pas entièrement. Le résidu A, insoluble, pulvérulent, blanc, est séparé par filtration. Le filtrat doit renfermer les chlorures de potassium et de sodium.

Le résidu A est insoluble dans l'acide chlorhydrique à chaud. Il peut être identifié avec la silice. Après calcination, il pèse 0,040 gr. La solution alcaline renferme donc 0,8 gr. de silice à l'état de silicate.

Le filtrat renfermant les chlorures est évaporé à sec. Les sels de potassium et de sodium sont ensuite transformés en perchlorates par traitement avec l'acide perchlorique.

Le perchlorate de potassium est insoluble dans l'alcool éthylique et dans l'acétate d'éthyle. Le perchlorate de sodium est facilement soluble dans ces solvants. Cette différence de solubilité nous permet d'isoler le perchlorate de potassium.

Prise d'essai : 50 cc.

Perchlorate de potassium : 3,397 gr. = 0,958 gr. de K.
Soit : 19,16 gr. de K dans les cendres totales.

Le perchlorate de sodium se trouve dans l'alcool de lavage.

31. J. BOUGAULT et E. CATTELAÏN : *J. Pharm. Chim.* 1931, 14, 97; 1932, 15, 97.

Ce sel est dosé à l'état de sulfate de sodium.

Prise d'essai : 50 cc.

Sulfate de sodium : 0,023 gr. = 7,45 mg. de Na.

Soit : 0,149 gr. de Na dans les cendres totales.

Le sodium est caractérisé dans la flamme de Bunsen et par le sel de Streng (solution acétique de magnésium-uranyl-acétate).

Pour nous assurer de l'identité et de la pureté du perchlorate de potassium nous le transformons également en sulfate de potassium.

Le perchlorate est réduit en présence d'acide oxalique et d'acide sulfurique. Une quantité de 0,4597 gr. de KClO_4 nous fournissent ainsi 0,286 gr. de sulfate de potassium ; théoriquement, il correspond à ce poids de perchlorate 0,289 gr. de sulfate de potassium. Nous en concluons que le sel de potassium isolé est pur.

9° Dosage de la silice.

Par le traitement des cendres noires nous avons obtenu un résidu insoluble dans les acides concentrés, qui est constitué de silice.

Cette silice est calcinée au four à moufle jusqu'à blancheur parfaite.

Ce résidu pulvérulent pèse 2,01 gr.

A ce poids il faut ajouter la silice qui est passée dans la solution alcaline (voir dosage du potassium). Les cendres totales renferment donc 2,81 gr. de silice.

Les résultats de l'analyse minérale des styles de maïs sont rapportés dans le tableau suivant :

100 gr. de styles de maïs secs renferment :

	en gr. p. 100
Soufre, calculé en H^2SO^4	0,28
Chlore.	0,36
Phosphore.	0,52
Silice, en SiO^2	0,40
Fer.	0,0064
Calcium.	0,14
Magnésium.	0,17
Sodium.	0,02
Potassium.	2,66

Les acides organiques acétique et formique n'ont pas

été dosés mais simplement caractérisés dans une infusion de style de maïs.

Cette constatation n'est pas sans intérêt, car les sels organiques alcalins, surtout l'acétate de potassium, sont parfois administrés comme diurétiques.

Analyse de l'infusion de styles de maïs.

Il est très vraisemblable que les préparations galéniques de styles de maïs ne renferment pas la totalité des sels alcalins existant dans la plante sèche. Néanmoins nous avons voulu nous faire une idée de la quantité passée en solution dans une infusion réalisée selon les préceptes du Codex 1908. Avec 20 grammes de styles secs, nous avons préparé une infusion dans 2 litres d'eau distillée.

Cette tisane, évaporée à sec, laisse un résidu brun-noir qui pèse 3 grammes. Après destruction complète de la matière organique nous pouvons doser le calcium et le potassium provenant de ce résidu sec.

L'infusion renferme, d'après cette analyse :

0,018 gr. de calcium.

0,200 gr. de potassium.

L'analyse quantitative des cendres du style de maïs nous a appris que 20 gr. de styles secs renferment :

0,028 gr. de calcium.

0,532 gr. de potassium.

La tisane préparée avec 10 p. 1.000 de la plante sèche, et par infusion pendant une demi-heure, renferme donc environ :

64 p. 100 du calcium total.

38 p. 100 du potassium total.

La quantité étonnante de sels de potassium qui existe dans les styles de maïs et la proportion relativement élevée des sels de potassium et de calcium qui se retrouvent dans l'infusion des styles de maïs paraissent justifier l'emploi de cette drogue comme diurétique.

CHAPITRE V

Examen des produits solubles dans l'éther.

Dans un essai préliminaire ayant pour but une orientation générale, nous avons traité les styles de maïs par différents solvants organiques dans l'ordre suivant (100 gr. de plante sèche par solvant) :

- 1° Ether de pétrole ;
- 2° Ether ;
- 3° Acétone ;
- 4° Alcool éthylique.

Nous avons opéré en commençant avec le solvant le plus sélectif pour finir avec l'alcool éthylique qui dissout des corps appartenant à des classes chimiques très différentes.

Avec l'éther de pétrole, l'éther et l'acétone, nous retirons une fraction lipidique dont la quantité la plus importante se trouve cependant dans l'extrait éthéré. L'extraction alcoolique de la plante fournit un extrait beaucoup plus complexe. Cet extrait alcoolique néanmoins se laisse dégraisser par lavages à l'éther. L'éther de lavage laisse un résidu qui correspond à l'extrait obtenu par traitement des styles à l'éther seul.

L'extrait éthéré étant de beaucoup le plus important, nous l'avons étudié le plus complètement possible.

Cette matière grasse est accompagnée d'une matière colorante qui peut être enlevée sans difficulté par suite de sa très grande solubilité dans l'acétone et dans l'éther de pétrole.

Après ce traitement on obtient une masse blanche rappelant l'aspect d'une cire.

Chauffé à l'ébullition avec de la potasse alcoolique, le produit est saponifié.

Par épuisement du savon par l'éther en milieu alcalin,

on retire la partie insaponifiable ; par épuisement par l'éther, du savon acidifié, on extrait les acides gras. Il était donc évident que ce corps soluble dans les solvants organiques était une matière grasse et déjà à ce moment là, la quantité relativement abondante de cette graisse a attiré notre attention.

Malgré la présence évidente de cire dans cette fraction nous lui conserverons cependant provisoirement le nom de « graisse du style de maïs ».

Extraction de la graisse totale.

50 kilogs de styles de maïs desséchés sont épuisés par 200 litres d'alcool éthylique à 90° à chaud. L'extrait alcoolique est réduit au bain-marie à un volume de 18 litres environ. Après refroidissement, on sépare par filtration sur une toile une partie de la graisse qui surnage le liquide. Cette graisse est dissoute dans 25 litres d'éther. On lave la solution éthérée à l'eau pour enlever les restes de matières solubles dans l'eau. Le lavage est rendu extrêmement difficile par suite de la formation d'émulsions tenaces. L'extrait alcoolique qui contient encore une forte proportion de la graisse totale est épuisé par agitation avec l'éther. Cette opération aussi est fâcheusement gênée par la naissance d'émulsions. Les extraits éthérés lavés à l'eau sont réunis. Ils contiennent la graisse totale et les acides gras libres du style de maïs. Après distillation de l'éther, il reste 1.340 grammes de matière grasse brute, ce qui correspond à une teneur en graisse de 2,7 p. 100 environ pour la matière première, c'est-à-dire aux styles de maïs, tels que les fournit la droguerie pharmaceutique.

Dans le Chapitre VI, nous reviendrons sur l'extraction de la matière première par l'alcool, car cette extraction nous fournit en même temps l'extrait hydro-alcoolique et l'extrait gras insoluble dans l'eau.

La graisse totale.

La graisse brute, d'un aspect brun-noir, est solide à la température ordinaire. Chauffée sur le bain-marie elle se transforme en une masse demi-liquide. Elle dégage

alors une odeur agréable, aromatique, qui rappelle l'huile de laurier.

A froid, cette odeur, qui annonce la présence de produits volatils, est beaucoup moins forte. Conservé à la glacière pendant 24 heures, le produit fondu au bain-marie se solidifie, formant une masse assez hétérogène, qui renferme des cristaux blancs.

La graisse brute renferme également de la chlorophylle qu'il est difficile d'éliminer parce qu'elle n'est guère absorbée par le noir activé. La coloration intense de la graisse brute rend difficile sinon impossible la détermination des constantes physiques et chimiques. Après une décoloration partielle par le charbon absorbant, de la matière grasse en solution éthérée, nous obtenons les chiffres suivants :

Point de fusion : 40°-55°.

Indice d'acidité : 77-78.

Indice de saponification : 125.

Indice d'iode : 52 (Méthode de Hanus.)

L'examen des valeurs indiquées par ces indices permet de prévoir dans cette matière grasse la présence d'une forte quantité de matières insaponifiables.

Le produit partiellement décoloré, sur lequel ces indices ont été déterminés, possède encore une coloration si intense que nous n'avons pu mesurer ni l'indice de réfraction, ni le pouvoir rotatoire.

Pour l'étude de la matière grasse, nous avons utilisé les méthodes classiques de séparation et d'identification que nous résumerons au cours de l'exposé.

Nous avons scindé la graisse d'abord en trois parties principales qui sont :

I. — Partie insaponifiable.

II. — Partie acide.

III. — Eaux glycérolées.

Saponification de la graisse totale.

800 grammes de corps gras ont été saponifiés par chauffage au réfrigérant à reflux avec 2.500 cc. de potasse alcoolique à 10 p. 100. L'ébullition a été maintenue pendant

5 heures. On chasse dans le vide l'excès d'alcool qui pourrait gêner l'épuisement ultérieur du savon par l'éther, et on ajoute 3 litres d'eau froide.

La matière insaponifiable qui est insoluble dans l'eau forme un précipité abondant, tandis que les acides restent en solution sous forme de sels de potassium. Ce mélange est épuisé en milieu alcalin par agitations répétées avec de l'éther jusqu'à ce que celui-ci ne soit plus sensiblement coloré. La solution étherée qui contient l'insaponifiable est lavée à l'eau distillée jusqu'à réaction neutre des eaux de lavage.

L'extraction de l'insaponifiable est rendue laborieuse par la formation d'émulsions très résistantes qui disparaissent cependant si on ajoute un très grand excès d'éther à la solution aqueuse savonneuse.

L'éther lavé à l'eau est ensuite séché sur du sulfate de sodium anhydre puis distillé. Le résidu qui représente l'insaponifiable total pèse 280 grammes. Ce poids correspond à 35 p. 100 de la matière grasse totale.

La solution alcaline des sels de potassium, des acides gras est ensuite acidulée avec de l'acide sulfurique dilué. Les acides gras mis en liberté sont extraits par agitations répétées avec de l'éther. L'éther lavé à l'eau jusqu'à réaction neutre est distillé après séchage sur sulfate de sodium anhydre. Le résidu représentant les acides gras totaux pèse 472 gr. La graisse contient donc 59 p. 100 d'acides gras.

Les eaux mères acides qui contiennent éventuellement du glycérol sont neutralisées et évaporées à sec au bain-marie. C'est dans ce résidu salin que nous avons recherché la présence du glycérol.

Nous avons suivi le mode opératoire suivant :

Le résidu a été repris à chaud par un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'éther, pour dissoudre le glycérol, en évitant autant que possible l'entraînement de sels. Cette opération répétée plusieurs fois donne, après élimination des dissolvants, un résidu brunâtre de saveur âcre, qui ne présente aucune des réactions classiques du glycérol.

Par chauffage avec du sulfate acide de potassium, il ne se forme pas d'acroléine ; de même l'oxydation par l'eau bromée ne provoque pas la formation de la moindre trace de dioxy-acétone.

Le résultat négatif de tous ces essais qui permettent de caractériser des traces de glycérol, démontre l'absence, même à l'état de traces, de ce corps dans la matière grasse retirée des styles de maïs.

Cette matière grasse doit par conséquent, être considérée comme une cire et non comme une graisse.

ACIDES GRAS

Acides gras totaux.

Les acides gras constituent, ainsi que nous l'avons dit plus haut, 59 p. 100 de la matière grasse des styles de maïs.

Ils forment une masse assez homogène, de couleur brun-verdâtre. Ils sont solides à la température ordinaire et chauffés sur le bain-marie ils fondent et dégagent une odeur très particulière qui est beaucoup moins forte à froid et qui rappelle l'odeur de l'acide laurique fondu.

La détermination des constantes physiques et chimiques est rendue difficile par suite de leur coloration intense.

Indice d'acidité.	176,2
P. M. moyen.	318
Indice d'iode (Hanus).	46,0
Indice de Reichert-Meissl.	2,0
Point de fusion.	56°-65°

L'examen de ces indices semble indiquer dans le mélange la prédominance des acides gras saturés de poids moléculaires assez élevé accompagnés d'une faible proportion d'acides non saturés et de traces d'acides gras volatils.

A. — *Acides volatils.*

Les acides volatils comprennent tous les acides qui sont entraînés par la vapeur d'eau, c'est-à-dire les acides à poids moléculaire faible de C¹ à C¹².

Pratiquement, les acides gras volatils sont identiques

aux acides solubles dans l'eau, exception faite pour l'acide laurique ($C^{12} H^{24} O^2$) soluble seulement dans un grand excès d'eau bouillante.

Cette acidité volatile est appelée indice de Reichert-Messl. Il nous a donné des renseignements précieux sur la quantité d'acides volatils présents dans notre corps gras. Cet indice est défini par le nombre de centimètres cubes de potasse décinormale nécessaires à la neutralisation de la partie des acides gras volatils solubles provenant de 5 gr. de corps gras.

Ce chiffre est pour nous de la grandeur de 2. Donc la graisse contient des acides volatils mais toutefois en quantité très peu importante.

Séparation des acides volatils.

Nous soumettrons les acides totaux à un entraînement à la vapeur d'eau.

Le premier distillat A (200 cc.) dégage une odeur qui rappelle celle de l'acide laurique. Les acides distillés ne sont pas complètement solubles dans l'eau.

Le distillat est nettement trouble.

Le second distillat que nous recueillons B (4.000 cc.) est presque sans odeur et contient de petits flocons blancs et des gouttelettes d'un corps gras fondu.

Les deux distillats A et B, après une forte addition de chlorure de sodium, sont épuisés à l'éther. Les solutions éthérées sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre et évaporées.

L'indice d'acidité sur les deux fractions donne les résultats suivants :

Fraction A (<0 gr. 5)	P. F.	42,5°-44,7°
	I. A.	273,0
	P. M. moyen.	205
Fraction B (0 gr. 3)	P. F.	57°-61°
	I. A.	214,4
	P. M. moyen.	261

La fraction A, recristallisée dans un mélange d'alcool et de benzène, donne après plusieurs cristallisations un produit fondant à 43-44° dont l'indice d'acidité est 277,5 et dont le poids moléculaire correspond à 201,8.

L'acide laurique pur fond à $43^{\circ}6$ et à un poids moléculaire de 200,2.

La présence de l'acide laurique $C^{12}H^{24}O^2$ est donc certaine.

La présence de l'acide laurique n'est pas très surprenante. Il se trouve en effet dans de nombreuses huiles et graisses d'origine végétale. Il nous suffira de rappeler ici les huiles de laurier et de coco, et pour le règne animal : le spermacèti.

La fraction B est très petite également (0,3 gr.). Nous la considérons comme un mélange d'acides à poids moléculaire plus élevé, c'est-à-dire en principe très difficilement entraînables à la vapeur d'eau. Leur présence ici est due à la grande quantité de vapeur d'eau utilisée et à la longueur de l'opération. Cette fraction fusible à $57-61^{\circ}$ a été jointe aux acides non volatils.

B. — *Acides non volatils.*

Les acides gras non volatils comprennent les acides solides aussi bien que les acides liquides qui ont résisté à un entraînement par la vapeur d'eau.

En général, les acides solides sont des acides saturés et les acides liquides sont des acides non saturés, possédant une ou plusieurs liaisons éthyliques.

Dans la littérature on trouve les deux termes acides liquides et acides non saturés comme synonyme.

Il y a cependant des exceptions. Il existe des acides non saturés qu'il faut ranger parmi les acides solides, tel l'acide érucique et l'acide isooléique.

Séparation des acides non volatils en acides saturés et non saturés.

De nombreuses méthodes ont été élaborées, permettant la séparation plus ou moins complète des acides saturés et des acides non saturés, mais la plus classique est certainement celle de Varrentrapp et c'est cette technique que nous avons utilisée jusqu'à un certain stade.

La séparation est basée sur la différence de solubilité

des sels des acides gras, dans les solvants organiques, principalement dans l'éther.

On prépare généralement les sels de plomb. Les sels des acides saturés sont insolubles dans l'éther à froid alors que les sels des acides non saturés s'y dissolvent. Il y a deux exceptions. Les sels des acides érucique et isooléique, sels d'acides non saturés, qui sont très peu solubles dans l'éther à froid.

Le mélange des acides non volatils est fortement coloré. Il nous a semblé utile d'enlever le plus possible de matière colorante avant de nous engager dans une autre opération. Nous avons agité notre produit en solution chloroformique avec du charbon adsorbant et nous sommes arrivés à le décolorer partiellement.

91 grammes d'acides gras sont chauffés avec une solution de potasse alcoolique.

Les sels de potassium obtenus après élimination d'une partie de l'alcool, addition d'eau et neutralisation au plus exactement possible, sont portés à l'ébullition.

On ajoute par petites portions et en agitant constamment une solution aqueuse bouillante d'acétate de plomb. On maintient 3 à 5 minutes à l'ébullition. On décante pour enlever l'excès de plomb et on lave à l'eau chaude pour enlever les restes du plomb.

Les savons de plomb sont repris à chaud par l'éther. Les solutions éthérées sont abandonnées pendant 24 heures à la glacière et ensuite on filtre. Il reste en solution les sels de plomb des acides liquides. Après décomposition de chacune des deux parties par l'acide chlorhydrique concentré, les acides libres sont extraits par l'éther. Les solutions éthérées sont lavées, séchées et distillées.

Au cours de cette opération nous avons pu faire la remarque suivante.

Habituellement, les sels de plomb des acides saturés précipitent sous forme d'une poudre blanche. Dans le cas présent, les sels de plomb ont formé une masse pâteuse, de couleur brun-noir, ce qui a rendu la séparation beaucoup plus difficile.

a) *Acides gras non saturés.*

Les acides gras non saturés que nous avons retirés du complexe des acides non volatils d'après la méthode décrite ci-dessus se présentent sous forme d'un liquide huileux de couleur brun-noir. Le produit dégage une odeur faible.

Nous avons été obligés de traiter ces acides avec du charbon adsorbant pour enlever une partie de la matière colorante. |

Les constantes chimiques de ce mélange (11 gr.) sont les suivantes :

Indice d'iode.	99,39
I. A.	178,4
P. M. moyen.	313,9

Ce poids moléculaire, très élevé, ne nous donne pas une indication bien précise sur les acides liquides.

Il en est autrement pour l'indice d'iode; l'acide oléique qui fixe 36,18 % de brome a un indice d'iode théorique de 90,07. Notre chiffre qui est très rapproché de cet indice théorique laisse supposer dans le mélange une quantité considérable d'acide oléique, à côté d'une faible proportion d'un acide possédant plusieurs liaisons éthylniques.

Deux méthodes ont été suggérées pour identifier les acides gras non saturés.

La première technique se base sur une loi générale trouvée par Hazura : Les acides non saturés par oxydation ménagée par le permanganate de potassium en solution alcaline fixent autant de groupes oxydryles, qu'ils ont de valences non saturées dans leur molécule.

Les produits d'oxydation de ces acides non saturés sont des acides hydroxylés contenant le même nombre d'atomes de carbone.

Les acides non saturés qu'on rencontre le plus souvent dans une graisse végétale sont ainsi transformés :

Acide oléique →	Acide dioxystéarique	$C^{18} H^{34} O^2 (OH)^2$
Acide linoléique →	Acide sativique	$C^{18} H^{32} O^2 (OH)^4$
Acide linolénique →	Acide linusique	$C^{18} H^{30} O^2 (OH)^6$

Les produits d'oxydation montrent des différences de solubilité qui permettent de les identifier.

La méthode a cependant un inconvénient. C'est que sou-

vent l'oxydation ne s'arrête pas à la formation de l'acide hydroxylé mais donne naissance à des produits de coupure.

Nous avons préféré appliquer la méthode de Hehner et Mitchell, précisée par Farnsteiner. Elle est basée sur les différences de solubilité des bromo-dérivés des acides gras liquides, qui peuvent être résumées comme suit :

		<i>Soluble éther de pétrole</i> Acide dibromostéarique $C^{18} H^{34} O^2 Br^2$
	<i>Solubles éther :</i> Acide dibromostéarique Acide tétrabromostéarique	} \
Acides non saturés bromés		
		<i>Insoluble éther de pétrole</i> Acide tétrabromostéarique $C^{18} H^{32} O^2 Br^4$
	<i>Insolubles éther :</i> Acide hexabromostéarique $C^{18} H^{30} O^2 Br^6$ ou dérivés polybromés.	

Identification des acides gras non saturés :

11 grammes d'acides gras liquides sont dissous dans 20 cc. d'éther. On ajoute par petites portions une solution de brome dans l'acide acétique concentré, jusqu'à ce qu'une coloration brune persiste. La solution est refroidie pendant 4 heures dans un mélange sel-glace à l'abri de la lumière. On filtre et on lave le précipité avec un peu d'acide acétique refroidi et ensuite avec de l'éther refroidi. Le produit brut est une poudre blanche-grise. Son point de fusion est 178-180°; celui de l'acide hexabromostéarique est 181°.

La solution filtrée est évaporée et le résidu contenant les dérivés tétra et dibromés est repris par l'éther de pétrole. On abandonne la solution pendant 24 heures à la glacière. Le précipité qui se forme doit être un acide tétrabromé. Il est séparé par filtration et lavé avec peu d'éther de pétrole. Le filtrat est évaporé. Il reste un résidu sous forme d'une huile brune. C'est le dérivé dibromé qui ne cristallise pas.

Acide linoléique $C^{18} H^{30} O^2$.

Cet acide existe à l'état de glycérider dans toutes les huiles siccatives.

Il constitue surtout une proportion importante de l'huile de lin.

L'acide linoléique se transforme, en contact avec l'air libre, rapidement en ses produits d'oxydation.

Dans la graisse du style de maïs il existe en très petite quantité, qui ne dépasse pas 5 p. 100 des acides liquides.

Le dérivé hexabromé brut que nous avons isolé fond à 178-180°.

Dans l'éther à froid il est complètement insoluble. Après trois recristallisations dans le benzène à chaud, son point de fusion reste constant à 180°.

Le point de fusion du dérivé pur est 180-181°.

Le dosage du brome donne le résultat suivant :

Substance = 4,419 mg.	Ag Br = 6,44 mg.
$C^{18} H^{30} O^2 Br^6$	Br p. 100 { Trouvé : 61,99 Théorie : 63,32

Nous concluons à la présence de l'acide linoléique $C^{18} H^{30} O^2$.

Le dérivé bromé se présente sous forme d'une poudre amorphe de couleur blanc-gris. L'acide lui-même est à l'état pur une huile presque incolore.

Acide linoléique $C^{18} H^{32} O^2$.

Cet acide existe de même que l'acide linoléique dans toutes les huiles siccatives à l'état de glycérider. Mais il fait aussi partie de l'huile d'amandes, de l'huile d'arachide et de l'huile d'olive.

On le rencontre également dans les graisses animales.

Dans la graisse du style de maïs, l'acide linoléique existe en très petite portion. Il possède la même propriété caractéristique de l'acide linoléique: exposé à l'air il se transforme en une masse résineuse par suite d'une oxydation rapide.

Nous avons retiré des acides liquides, 0,8 gr. environ d'un produit tétrabromé, qui est insoluble dans l'éther de pétrole à froid.

L'acide stéarique tétrabromé pur fond à 113-114°. Le point de fusion du corps isolé par nous est 106-108°. Le faible abaissement du P. F. théorique peut être provoqué par la présence d'une trace de l'acide hexabromé. Pour éliminer cette impureté, nous dissolvons le corps dans l'éther. Après un refroidissement énergique de plusieurs heures, il se sépare en effet quelques cristaux que nous identifions comme le dérivé hexabromé. La solution étherée est évaporée et l'acide tétra-bromostéarique est ensuite purifié par des cristallisations successives dans l'éther de pétrole à chaud, ensuite dans l'acide acétique concentré.

En employant l'éther de pétrole comme solvant, nous avons observé un inconvénient. Dans l'éther de pétrole à chaud le dérivé tétrabromé paraît se transformer partiellement en une masse brune, visqueuse, qui fond vers 250° avec décomposition. Nous croyons qu'il s'agit d'un produit d'oxydation ou de polymérisation.

Le point de fusion de notre acide tétrabromostéarique s'élève, après différentes recristallisations, jusqu'à 112-113° où il reste constant.

Le dosage du brome nous permet de conclure définitivement à la présence de l'acide linoléique $C^{18}H^{32}O^2$.

Substance = 7.720 mg.	Ag Br = 9,54 mg.
$C^{18}H^{32}O^2Br^4$	Br p. 100 { Trouvé : 52,59 Théorie : 53,33

La présence de cet acide sera de plus confirmée dans l'étude de l'acide oléique.

Le corps bromé se présente sous forme de fines aiguilles microscopiques. Il est facilement soluble dans l'éther et dans l'alcool, mais très peu soluble dans l'éther de pétrole.

Acide oléique $C^{18}H^{34}O^2$.

L'acide oléique se trouve dans la plupart des corps gras d'origine végétale et animale. En général on peut dire que la consistance d'une graisse diminue avec une augmentation de sa teneur en acide oléique.

L'acide oléique peut fixer deux atomes de brome par molécule. Mais à la température ordinaire le produit dibromé est comme l'acide oléique lui-même une huile. Pour

pouvoir l'identifier d'une façon simple et nette il faut transformer l'acide dibromostéarique en acide dioxy-stéarique.

Ce que l'indice d'iode sur les acides liquides totaux nous a indiqué auparavant se confirme maintenant.

Nous retirons de 11 gr. d'acides totaux 9 gr. d'acide dibromostéarique.

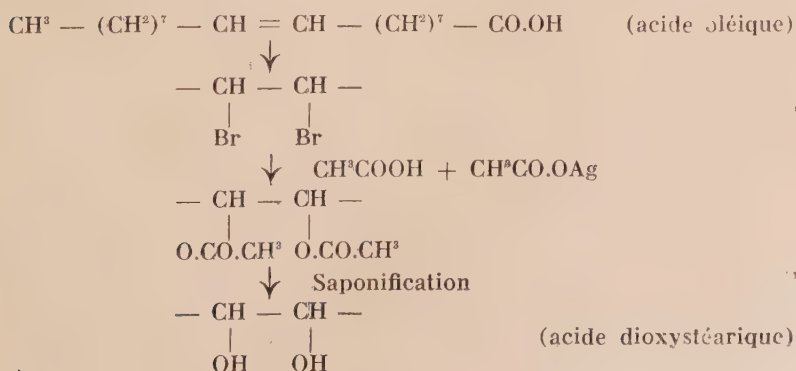
Pour enlever des traces d'acide tétrabromostéarique qui peuvent avoir passé avec le corps monoéthylrique nous dissolvons l'acide dibromostéarique dans l'éther de pétrole. Après refroidissement à la glacière nous séparons par filtration peu de dérivé tétrabromé.

Au cours des opérations suivantes, nous préparons l'acide dioxystéarique :

9 gr. d'acide dibromostéarique sont dissouts dans 100 cc. d'acide acétique concentré. On ajoute 8 gr. d'acétate d'argent et on chauffe au bain d'huile pendant 2 à 3 heures.

Après ce temps, le brome est substitué par les groupes acétyles.

Le dérivé acétylé est repris par l'éther et lavé à l'eau pour enlever l'excès d'acide acétique. Après évaporation de l'éther, le produit est saponifié par la potasse alcoolique. Pour s'assurer de la fin de la réaction on lave les savons alcalins à l'éther. Ils ne contiennent plus de matière insaponifiée. En acidulant la solution savonneuse par l'acide chlorhydrique on met en liberté l'acide dioxystéarique. Nous exprimons la transformation par les formules suivantes :



L'acide dioxystéarique pur fond à 136°. Il est soluble dans l'alcool à chaud, peu soluble dans le même solvant à froid. Notre produit a été purifié par recristallisations dans l'alcool éthylique à 90°, et ensuite dans l'acétone.

Son point de fusion s'élève alors à 131-132° et n'augmente plus.

Par les cristallisations dans l'acétone nous avons réussi à séparer des traces d'un corps fondant à 172-174°. Nous avons déjà vu que la séparation en dérivé di- et tétrabromé par l'éther de pétrole n'était pas tout à fait quantitative.

Or nous supposons que l'acide tétrabromostéarique qui se trouvait comme impureté dans le produit a également été transformé en acide hydroxylé. L'acide tétra-oxystéarique ou acide sativique $C^{18}H^{32}O^2(OH)^4$ fond à 173°. C'était donc peu d'acide sativique qui accompagnait l'acide dioxystéarique.

L'acide dioxystéarique, dérivant de l'acide oléique, que nous avons isolé cristallise en fins petits prismes aplatis groupés autour d'un centre.

b) Acides gras saturés.

Nous avons scindé les acides gras totaux en acides non saturés et en acides saturés par la méthode de Varrentrapp (sels de plomb).

Les sels de plomb des acides saturés qui sont insolubles dans l'éther à basse température ont été séparés par filtration.

On décompose les sels métalliques par l'acide chlorhydrique concentré et on reprend les acides libres par l'éther. La solution éthérée est décolorée par du charbon adsorbant, ensuite elle est séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée. On obtient ainsi 74 gr. d'acides gras saturés sur 91 gr. d'acides totaux mis en œuvre, soit 81 %.

C'est une masse cireuse, de couleur jaune, solide à la température ordinaire.

Le produit contient encore des traces d'un acide non

saturé, ce qui ressort de son indice d'iode qui est de la grandeur de 3,7.

L'indice d'acidité est 183,6, le poids moléculaire moyen par suite 305. Il est peu probable que ce poids moléculaire corresponde à un seul acide.

La meilleure voie pour identifier les individus de ce complexe est la séparation par distillation fractionnée des esters éthyliques sous pression réduite, ce qui constitue un traitement ménagé de la matière première.

Préparation des esters éthyliques.

40 grammes d'acides gras saturés totaux sont dissous dans 100 cc. d'alcool absolu. On ajoute 1 cc. d'acide sulfurique concentré et on chauffe la solution pendant 4 heures dans un ballon relié à un réfrigérant à reflux.

Après refroidissement du ballon, le produit de la réaction se prend en masse. Les esters éthyliques ainsi obtenus sont repris par l'éther. On lave la solution étherée à l'eau saturée de carbonate acide de sodium.

Les acides libres, soit l'acide sulfurique, soit des acides gras non estérifiés, sont ainsi éliminés. L'éther est séché sur du sulfate de sodium et évaporé.

La masse blanc-jaune des esters éthyliques est solide à la température ordinaire. Elle dégage une odeur agréable de fruits qui est particulière aux esters de la série.

Distillation des acides estérifiés.

Ces esters (41 gr.) sont soumis à une distillation fractionnée dans le vide.

L'étude de ces acides gras saturés a été divisée en deux groupes : le premier comprend les acides dont les esters éthyliques distillent avant 240° dans les conditions ci-dessous et le second, les acides dont les esters n'ont pas distillés au-dessous de 240°.

Premier groupe. — Par distillation, sous pression réduite, nous avons recueilli 4 fractions dans les conditions indiquées dans le tableau qui suit :

N°	Température	Pression	Poids
1	195-202°	4 mm.	6,5 g.
2	202-212°	5 mm.	8,5 g.
3	212-222°	4 mm.	3,5 g.
4	235-237°	4 mm.	3,5 g.

A la température ordinaire toutes les fractions sont solides mais leurs points de fusion ne sont pas nets et se recouvrent partiellement.

Cette première tentative de séparation ne permet aucune conclusion certaine.

Chaque fraction des esters éthyliques est saponifiée par la potasse alcoolique.

Les poids moléculaires des acides régénérés figurent dans le tableau suivant :

N°	Indice de saponification	Poids moléculaire ester	Poids moléculaire acide	Point de fusion acide
1	196	287	259	51,5-52,5°
2	186	302	274	47,5-48,5°
3	177	316	288	56,5-60,5°
4	163	343	315	63-64°

Les poids moléculaires calculés d'après les indices de saponification rendent probable la présence de trois acides différents dans ces quatre fractions, notamment l'acide palmitique, l'acide stéarique et l'acide arachidique, dont les poids moléculaires théoriques respectifs sont 256, 284, 312.

Par la suite, nous démontrerons que la présence des acides palmitique et stéarique est indiscutable. La fraction 4 n'est qu'un mélange de ces deux acides accompagné d'une forte proportion d'acides cireux à poids moléculaires élevés.

Si les poids moléculaires calculés donnent déjà des pré-

visions pour les fractions 1 et 3, il n'en est pas de même pour leurs points de fusion qui sont manifestement trop bas pour l'acide palmitique (P.F. 62, 6°) et l'acide stéarique (P.F. 69, 3°).

Les fractions 1, 2 et 3 sont distillées de nouveau dans le vide.

La fraction 4 est d'abord scindée par une simple cristallisation dans l'alcool à 95°. Après 24 heures, on sépare par filtration un corps cristallin, blanc, qui fond à 70-71° et qui possède un poids moléculaire moyen de 379. Les eaux mères ne donnant pas une seconde récolte après concentration aux deux tiers, sont ensuite réunies avec la fraction 3.

Distillation des acides libres.

Distillation de la fraction 1. — Les acides de la fraction 1 sont transformés en sels de potassium. Le savon en solution aqueuse est lavé à l'éther pour enlever les corps gras non acides qui peuvent avoir pris naissance pendant la distillation des esters. Les acides sont régénérés des sels de potassium et soumis à la distillation dans le vide.

Nous recueillons 3 fractions :

N°	Température	Pression	Indice d'acidité	Poids moléculaire	Point de fusion
1a	190°	2 mm.	222	252	56°
1b	191-192°	—	217	258	56°
1c	192°	—	211	265	41°

La présence de l'acide palmitique est évidente, malgré l'impossibilité d'atteindre le point de fusion qui est 62,6° pour cet acide. C'est la fraction 1b qui en est le plus proche, elle contient cependant encore des traces d'acide stéarique.

Distillation de la fraction 2 :

Les acides régénérés des sels de potassium lavés à

l'éther sont distillés sous pression réduite. Nous séparons 3 fractions :

N°	Température	Pression	Poids d'acide	Poids moléculaire	Point de fusion
2a	187°	5 mm.	208	269	50°
2b	190-195°	4 mm.	201	279	51-51,5°
2c	200-210°	2 mm.	195	287	49,5°

La fraction 2 est un mélange d'environ 40 p. 100 d'acide palmitique et 60 p. 100 d'acide stéarique. Les difficultés que présente la séparation d'un tel mélange sont bien connues.

Quand on essaie par exemple de séparer les deux acides par cristallisation dans l'alcool on arrive toujours à un mélange eutectique avec un poids moléculaire de 274 et un point de fusion à 50,5° qui ont même conduit certains auteurs à le considérer comme un corps nouveau, mais qui se trouve entre les valeurs accordées à ses deux composants.

Il est bien compréhensible que l'acide palmitique et l'acide stéarique ayant des propriétés chimiques et physiques aussi voisines passent toujours ensemble en proportions variables, lorsqu'on soumet leur mélange à une distillation.

Les auteurs signalent des points de fusion entre 51,5 et 60°.

Mais déjà en 1905, Holde a montré que de tels acides gras « naturels » décrits jusque là n'étaient que des mélanges d'acide palmitique et stéarique³².

Distillation de la fraction 3 :

Les acides de la fraction 3 additionnées du résidu des eaux mères de la fraction 1 sont lavées en milieu alcalin par l'éther.

32. HOLDE: *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1905, 38, 1247.

Les acides régénérés sont distillés dans le vide comme l'indique le tableau suivant :

N°	Température	Pression	Indice d'acidité	Poids moléculaire	Point de fusion
3a	190°	2 mm.	198	282	47,5
3b	192-210°	—	196	286	52,5°
3c	210-215°	—	191	283	57,9

De même que dans la fraction précédente la technique ne permet pas d'isoler un acide pur, quoique les fractions 3 a et 3 b révèlent la présence de l'acide stéarique.

En résumé, nous avons distillé les acides gras saturés d'abord à l'état d'esters éthyliques, ensuite à l'état d'acides libres. La présence de l'acide palmitique aussi bien que de l'acide stéarique nous paraît sûre, puisque nous retrouvons les poids moléculaires de 256 et de 284 dans les fractions 1 et 3, et ensuite dans les fractions 1 a, 1 b, 3 a, 3 b; cependant les points de fusion sont trop bas, sans exception, par rapport aux corps purs.

Cette constatation peut s'expliquer ainsi :

Nos acides palmitique et stéarique contiennent une faible trace d'acide oléique, ne changeant pas sensiblement le poids moléculaire moyen mais abaissant le point de fusion. En effet, nous avons constaté que les acides « saturés » avaient un indice d'iode non nul mais très faible.

Purification du mélange palmito-stéarique.

Dans ce but, nous avons eu recours à la précipitation fractionnée des sels de magnésium en milieu hydroalcoolique selon la méthode de Heintz²³.

a) Séparation de l'acide palmitique.

Les fractions 1 a (poids moléculaire 252) et 1 b (poids moléculaire 258) sont réunies (3,8 gr.) et dissoutes dans

23. HEINTZ : *Arch. d. Pharm.* 1856, 125, 193.

autant d'alcool éthylique à 70° qu'il est nécessaire pour empêcher une cristallisation à température ordinaire.

On ajoute 15 cc. d'une solution d'acétate de magnésium 5 p. 100 dans de l'alcool à 70°. On maintient la solution pendant 24 heures à la température du laboratoire et on filtre le précipité blanc qui s'est formé. Le filtrat est additionné de 15 cc. de la solution d'acétate de magnésium et on continue l'opération comme précédemment. On s'arrête quand il ne résulte plus de cristallisation après additions successives de deux fois 15 cc. de la solution d'acétate de magnésium.

On recueille ainsi 5 fractions d'acides gras sous forme de sels de magnésium. On décompose ces sels par l'acide chlorhydrique concentré. Les acides libres sont repris par l'éther et lavés soigneusement. On détermine le poids moléculaire de chaque fraction par dosage acidimétrique.

Ces chiffres s'échelonnent de 251,8 à 259,8 :

Fraction 1,	poids moléculaire	259,5
— 2,	—	258,6
— 3,	—	253,8
— 4,	—	253,1
— 5,	—	251,8

La fraction 2 se rapproche le plus des chiffres théoriques pour un acide $C^{16}H^{32}O^2$:

$C^{16}H^{32}O^2$	Trouvé	Théorie
Point de fusion	59,5°	62,6°
Indice d'acidité.	212,5	218,6
Poids moléculaire.	258,6	256,26

Séparation de l'acide stéarique.

Les fractions suivantes sont réunies :

2c	Poids moléculaire	287
3a	—	282
3b	—	286

On dissout ces acides dans l'alcool éthylique à 70° en les soumettant au même traitement que les fractions palmitiques.

Nous scindons le mélange sous forme de sels de magnésium en 6 fractions :

Fraction 1,	poids	moléculaire	292,0
— 2,	—	—	287,9
— 3,	—	—	286,3
— 4,	—	—	281,9
— 5,	—	—	281,3
— 6,	—	—	276,6

Les fractions 3 et 4 sont les plus voisines des chiffres adoptés pour l'acide stéarique pur.

C ¹⁸ H ³⁶ O ²	Trouvé		Théorie
	Fraction 3	Fraction 4	
Point de fusion	62,4°	62°	69,3°
Indice d'acidité	195,6	198,7	197,0
Poids moléculaire . .	286,3	281,9	284,2

Si nous mettons en comparaison les résultats fournis par la distillation dans le vide, avec les chiffres trouvés par la méthode de Heintz, on peut constater que nos produits ont été purifiés par cette dernière technique.

Technique	Acide palmitique		Acide stéarique	
	Point de fusion	Poids moléculaire	Point de fusion	Poids moléculaire
Séparation par distillation des esters éthyliques.	51,5-52,5°	259	56,5-60,5°	288
Séparation par distillation des acides libres.	56°	252	49,5°	287
	56°	258	47,5°	282
			52°	286
Séparation par la méthode de Heintz.	59,5°	258,6	62,4°	286,3
			86,2°	281,9
Théorie	62,6°	256,3	69,3°	284,3

Les poids moléculaires n'ont plus été sensiblement modifiés, mais nous avons élevé les points de fusion.

Quoique l'acide palmitique et l'acide stéarique isolés par nous fondent encore plus bas que les acides chimiquement purs, nous sommes convaincus de leur présence dans la graisse du style de maïs.

Nous n'avons pu pousser plus loin la purification faute de substance.

Deuxième Groupe: Acides gras à point d'ébullition élevé:

Etude des acides dont les esters éthyliques n'ont pas distillé au-dessous de 240° et sous une pression de 4 mm. de mercure.

Par suite de la distillation à une température assez élevée le mélange restant dans le ballon s'est coloré en brun-noir. Il a été d'abord en solution alcoolique décoloré par le charbon.

Après ce traitement, il reste 14 gr. d'une masse blanc-jaunâtre fondant à 70-80°, peu soluble dans l'alcool et dans l'éther.

Acide cérébronique.

Par une cristallisation fractionnée dans l'éther, nous séparons d'abord un corps qui est peu soluble dans l'éther, mais facilement soluble dans l'alcool. Il fond à 104-105°. La masse fondue recristallise aussitôt à 103-102°. Le point de fusion reste constant après deux recristallisations dans l'alcool éthylique.

Il nous semble cependant que le corps est modifié par la chaleur. Un échantillon (point de fusion : 105°) que nous avons séché dans l'étude à 110° fond déjà à 99°. Par recristallisations ultérieures ce point de fusion n'augmente plus. Nous déterminons le poids moléculaire de ce corps (P.F. 104°-105°) par dosage acidimétrique sur une quantité de 0,274 gr. et nous obtenons les résultats suivants :

Indice d'acidité	140,4
Poids moléculaire.	398,8

Ces chiffres correspondent exactement à un oxy-acide de la formule brute $C^{25}H^{50}O^3$ connu sous le nom d'acide cérébronique:

Point de fusion.	105-106°
Indice d'acidité.	140,7
Poids moléculaire.	398

La combustion confirme la présence de cet acide monohydroxylé d'une façon aussi irréfutable :

Substance : 4,500 mg.; CO² : 12,40 mg.; H²O : 4,93 mg.

	Trouvé	Théorie
C p. 100.	75,15	75,37
H p. 100.	12,26	12,56

Nous avons donc démontré la présence de l'acide cérébronique dans les styles de maïs.

L'acide de la formule brute C²⁵ H⁵⁰ O³ n'est pas connu en chimie végétale jusqu'aujourd'hui.

Les auteurs qui en parlent l'ont obtenu à partir d'un produit du règne animal qui s'appelle cérébrone. Le cérébrone est un corps existant dans la cervelle humaine.

Thierfelder ³⁴ a scindé le cérébrone par hydrolyse avec de l'acide sulfurique à 7 p. 100 en galactose, en un corps basique de la formule brute C¹⁷ H³⁵ NO² et en un acide qu'il appelle « acide cérébronique ».

L'analyse élémentaire de cet acide et de son sel de sodium conduit à la formule C²⁵ H⁵⁰ O³.

L'acide cérébronique fond à 99°-100°. Il est optiquement actif, son pouvoir rotatoire peut varier entre +1,79° et +1,90° (en solution pyridinique). *L'acide cérébronique retiré du style de maïs, est optiquement inactif.*

En 1912, Levene et Jacobs ³⁵ ont isolé l'acide cérébronique en utilisant la même matière première que Thierfelder. Ils signalent cependant la présence d'un acide isomère, optiquement inactif, qui fond à 82-84°.

A l'acide cérébronique, les auteurs attribuent le point de fusion 106-108°.

L'analyse élémentaire fournit les mêmes chiffres pour les deux acides qui se distinguent seulement par leurs constantes physiques.

34. H. THIERFELDER : *Z. physiol. Chem.* 1904, 43, 21.

35. P.-A. LEVENE et W.-A. JACOBS : *J. biol. Chem.* 1912, 12, 381.

De là on peut conclure à l'isomérisation des deux corps.

Levene et Jacobs ont été les premiers à essayer de déterminer la structure chimique de l'acide cérébronique.

Par oxydation de l'acide cérébronique, ils ont obtenu un acide de formule $C^{24}H^{48}O^2$ qui fond à 81° . L'hydrocarbure saturé qui est à la base de cet acide fut préparé par dégradation de l'acide. Il possède un point de fusion de $51-52^\circ$.

Par l'analyse suivante, les auteurs veulent démontrer la structure de leur acide cérébronique :

L'acide lignocérique, $C^{24}H^{48}O^2$, fond à 81° . L'hydrocarbure saturé correspondant fond à $51-51,5^\circ$. Donc, un acide obtenu par oxydation de l'acide cérébronique possède une structure analogue à celle de l'acide lignocérique.

En 1915, P. Brigl³⁶ recommence les recherches sur la constitution de l'acide cérébronique ; il reproche à Levene et Jacobs que leur acide racémique fondant à 84° n'est pas, en réalité, identique à un acide cérébronique.

Brigl caractérise l'acide d-cérébronique comme un α -oxy-acide qui fournit par réduction le n-pentacosane.

Mettant en doute l'existence de l'acide d-l-cérébronique signalé par Levene et Jacobs, il est confirmé dans son avis par Klenk³⁷ qui suppose que cet acide cérébronique à point de fusion bas n'a été qu'un produit impur.

Klenk a préparé par précipitations fractionnées avec l'acétate de lithium, un acide d-cérébronique fondant à $100-101^\circ$. Il décline l'existence d'une acide inactif.

Levene³⁸ dans une seconde publication signale comme point de fusion définitif pour l'acide cérébronique inactif $92,5^\circ$. Il avait réussi à transformer l'acide d-cérébronique (point de fusion $106-108^\circ$) en acide d-l-cérébronique (point de fusion $92,5^\circ$). De même il avait obtenu ce dernier acide (P.F. $92,5^\circ$) à partir de l'acide lignocérique.

Sous l'action prolongée de la chaleur le point de fusion de l'acide cérébronique baisse légèrement. Cette observation a déjà été faite par Rosenheim³⁹.

36. P. BRIGL : *Z. physiol. Chem.* 1915, 95, 161.

37. E. KLENK : *Z. physiol. Chem.* 1927, 166, 268.

38. P.-A. LEVENE et F.-A. TAYLOR : *J. biol. Chem.* 1922, 52, 227.

39. A. ROSENHEIM : *Biochem. J.* 1915, 10, 146.

L'acide cérébronique isolé par ce dernier auteur fond à 105-106°.

Certainement la constitution de l'acide cérébronique suscitera encore des discussions.

Si l'on n'a pas encore isolé un isomère pur de l'acide il est quand même très probable qu'il en existe un ou deux. Ceci expliquerait aussi le fait qu'on signale plusieurs points de fusion pour le même corps.

Nous croyons être les premiers à signaler la présence de cet oxy-acide à poids moléculaire élevé dans le règne végétal.

Dans le style de maïs, l'acide cérébronique n'existe qu'en très petite quantité, qui ne dépasse pas 1 p. 100 des acides gras totaux.

Acides cireux.

Le reste des acides à point d'ébullition élevé, qui est soluble dans l'éther, est soumis à une cristallisation fractionnée dans l'alcool absolu.

Nous recueillons 3 fractions :

Fraction 1, point de fusion	82-82,5°	↓	solubilité croissante dans l'alcool.
— 2,	78-82°		
— 3,	72-79°		
— 4, eaux-mères			

Quand on reprend ces fractions dans l'alcool absolu on arrive facilement à isoler deux corps à P.F. constant, appartenant aux acides cireux :

a) Point de fusion	82,1-82,6°
b) —	77-78°

Les dosages acidimétriques donnent les résultats suivants :

a) Point de fusion	82,1-82,6°
Indice d'acidité.	137,3
Poids moléculaire.	407,8

Ces chiffres correspondent très bien avec ceux d'un acide cérotique ($C^{27}H^{54}O^2$) qui fond à 82.2-82,5° et dont le poids moléculaire théorique est 410.

b) Point de fusion	77-78°
Indice d'acidité.	146,8
Poids moléculaire.	381,6

L'acide néocérotique pur $C^{25}H^{50}O^2$ fond à $77,8^\circ$. Son poids moléculaire théorique est 382. Nous avons donc isolé l'acide cérotique $C^{27}H^{54}O^2$ et son homologue inférieur, l'acide néocérotique $C^{25}H^{50}O^2$ dans les styles de maïs.

Acide cérotique.

On a signalé différents corps sous le nom d'acide cérotique.

Lewkowitsch ⁴⁰ a isolé de la cire d'abeilles un acide $C^{26}H^{52}O^2$, qu'il a appelé acide cérotique.

M. Marie ⁴¹ a retiré de la cire un acide de la formule $C^{25}H^{50}O^2$ qu'il appelle également acide cérotique.

Brodie ⁴² a le premier, désigné un acide $C^{27}H^{54}O^2$ sous le même terme. Il l'a rencontré dans la cire.

Les points de fusion signalés par ces auteurs oscillent de $77,5^\circ$ à $82,5^\circ$.

De nombreux travaux décèlent la présence d'un corps appelé acide cérotique dans la cire de Carnauba, la cire d'opium, le suint de moutin, la cire de Ghedda, l'huile de muscadet, l'essence d'oranges douces, la racine de *Taraxacum officinale* (Wigg).

Ce sont tous des acides de la formule $C^{25}H^{50}O^2$ ou $C^{26}H^{52}O^2$.

Donc il ne sont pas identiques au corps que Gascard ⁴³ appelle acide cérotique dans son travail classique sur les corps de la série grasse.

L'acide de la cire de Chine isolé par Gascard a pour formule $C^{27}H^{54}O^2$ et comme point de fusion 82° - $82,5^\circ$.

Tropsch et Kreuzer ⁴⁴ ont trouvé un acide avec les mêmes caractéristiques dans la cire de lignite, mais ils l'appellent acide carbocérique. Cet acide qui cristallise sous forme de petites aiguilles de l'ester acétique fond à 82° .

Damois ⁴⁵ put démontrer l'existence de deux acides ci-

40. J. LEWKOWITSCH : *Proc. chem. Soc.* 1890, 92.

41. MARIE : Thèse Fac. des Sciences, Paris, 1895.

42. BRODIE : *J. Pharm. Chim.* 1849, 15, 145.

43. GASCARD : Thèse Fac. des Sciences, Paris, 1920.

44. TROPSCH et KREUTZER : *Chem. Zentralblatt*, 1922, 4, 561.

45. G. DAMOIS : Thèse Fac. Pharm., Paris, 1924.

reux dans la cire d'abeilles. Il leur attribua les formules $C^{25}H^{50}O^2$ et $C^{27}H^{54}O^2$.

L'acide $C^{26}H^{52}O^2$ signalé par Lewkowitsch n'existe pas dans la cire.

Damois appelle l'acide $C^{25}H^{50}O^2$ acide néocérotique. Il propose de réserver le nom d'acide cérotique en définitive pour l'acide $C^{27}H^{54}O^2$, qui a le point de fusion $82,2^{\circ}$ - $82,5^{\circ}$.

Nous croyons que l'acide cireux avec le point de fusion $82,1$ - $82,6^{\circ}$ que nous avons retiré du style de maïs est identique à l'acide cérotique. L'acide cérotique se trouve dans cette drogue en petite proportion (5 p. 100 des acides gras totaux).

Nous l'avons obtenu par cristallisation de l'alcool absolu sous forme d'une masse granuleuse, blanche.

Acide néocérotique.

En 1864, Carius ⁴⁶ signale dans les glandes de l'hyène un acide de la formule $C^{25}H^{50}O^2$ avec le point de fusion 77 - 78° . Il l'appelle selon l'origine acide hyénique.

Marie ⁴¹ avait retiré ce corps de la cire d'abeilles ; il lui attribue la formule $C^{25}H^{50}O^2$ dans la cire, il appelle cet acide $C^{25}H^{50}O^2$ acide cérotique.

Tropsch et Kreutzer ⁴⁴ signalent l'acide $C^{25}H^{50}O^2$ dans la cire de lignite. Ils l'obtiennent par cristallisation dans le benzol sous forme de petites aiguilles fondant à 78° .

Damois ⁴⁵ confirme la présence de l'acide $C^{25}H^{50}O^2$ dans la cire d'abeilles. Il l'appelle acide néocérotique, indiquant ainsi qu'il est différent de l'acide $C^{27}H^{54}O^2$ et rappelant en même temps son origine.

L'acide néocérotique de Damois cristallise sous forme d'hexagones réguliers, fondant à $77,8^{\circ}$.

L'acide néocérotique que nous avons retiré du style de maïs où il existe en petite quantité (environ 3 p. 100 des acides gras totaux) se présente sous forme d'une masse blanche pulvérulente.

46. CARIUS : *Bull. Soc. Chim. France*, 1864, 2, 375.

1. — MATIÈRES INSAPONIFIABLES

I. — Hydrocarbures.

Séparation des hydrocarbures:

Pour séparer les hydrocarbures, la matière insaponifiable est dissoute dans l'acétone à une température de 40°.

La solution refroidie laisse déposer d'abord les hydrocarbures sous forme amorphe ; on les enlève par filtration. Par cristallisations successives dans l'éther de pétrole et dans l'acétone on peut obtenir le mélange blanc des carbures.

Description générale.

Nous avons retiré de la partie insaponifiable de la graisse 9 gr. de carbures totaux.

Le mélange des carbures se présente sous forme d'une poudre blanche, jaunâtre, sans odeur et sans saveur.

Il est insoluble dans l'eau, peu soluble dans les solvants organiques à froid, plus soluble à chaud.

Son point de fusion n'est pas très net (60°-63°), ce qui laisse prévoir que nous sommes en présence d'un mélange. Pour bien démontrer la nature chimique du corps isolé, nous soumettons 5 gr. à une acétylation. L'indice de saponification du produit acétylé est nul. Donc le corps ne renferme pas de fonction alcool. Plus tard une combustion des corps de ce groupe démontrera l'absence d'oxygène.

L'indice d'iode des carbures totaux est également nul.

Nous concluons que nous sommes en présence d'un mélange d'hydrocarbures saturés.

Identification des carbures.

La séparation des carbures de la matière insaponifiable s'effectue sans aucune difficulté. L'isolement et la purification des divers hydrocarbures nécessite cependant des travaux beaucoup plus étendus.

Pour mener à bien cette opération, nous avons eu recours avec succès à la méthode préconisée par G. Da-

mois ⁴⁵. A une solution benzénique du mélange des hydrocarbures sont additionnées successivement de petites quantités égales d'alcool éthylique à 95°. Par cette précipitation fractionnée on arrive à échelonner les points de fusion de 55° à 64°. Chacune des dix premières fractions est refractionnée. Le tableau suivant donne les points de fusion ainsi obtenus :

Carbures totaux 63°-64°	1 = 63°-64°	$\left\{ \begin{array}{l} a = 64^{\circ}-65,5^{\circ} \\ b = 63^{\circ}-64,5^{\circ} \\ c = 62,5^{\circ}-63,7^{\circ} \\ d = 62^{\circ}-63^{\circ} \\ e = 61^{\circ}-62,8^{\circ} \\ f = 60,5^{\circ}-63^{\circ}5 \\ g = 59,5^{\circ}-66,5^{\circ} \end{array} \right.$
	2 = 62,5°-63,5°	$\left\{ \begin{array}{l} a = 63^{\circ}-64^{\circ} \\ b = 62,8^{\circ}-64^{\circ} \\ c = 62,8^{\circ}-63,5^{\circ} \\ d = 61,5^{\circ}-62,5^{\circ} \\ e = 60,5^{\circ}-62^{\circ} \\ f = 57,7^{\circ}-65^{\circ} \end{array} \right.$
	3 = 61°-63,5°	
	4 = 60°-62°	$\left\{ \begin{array}{l} a = 61^{\circ}-62,5^{\circ} \\ b = 60,5^{\circ}-62^{\circ} \end{array} \right.$
	5 = 58°-61°	
	6 = —	
	7 = 58°-61°	$\left\{ \begin{array}{l} a = 53,5^{\circ}-61^{\circ} \\ b = 57^{\circ}-66^{\circ} \\ c = 55,8^{\circ}-66^{\circ} \end{array} \right.$
	8 = 57,5°-61°	
	9 = 55°-58,5°	
	10 = 58°-66°	

En comparant quantitativement les diverses fractions, on soupçonne la présence des carbures suivants :

	Formule brute	Point de fusion
Heptacosane.	C ²⁷ H ⁵⁶	59,5°
Nonacosane.	C ²⁹ H ⁶⁰	63,5°
Hentriacontane.	C ³¹ H ⁶⁴	68,4°

Nous continuons les précipitations fractionnées en groupant de temps à autre les fractions dont les points de fusion se rapprochent.

Après maintes recristallisations, nous séparons de façon définitive les trois hydrocarbures énumérés plus haut.

Il faudrait aller trop loin pour donner ici les points de fusion des très nombreuses fractions intermédiaires. Etant donné que la nature chimique des corps isolés a été déterminée de façon nette par l'indice d'iode et l'indice d'acétyle, effectués sur le mélange, nous croyons pouvoir négliger de les refaire sur les carbures isolés.

Heptacosane $C^{27}H^{56}$.

Ce corps a été trouvé par Schwalb ⁴⁷ dans la cire d'abeilles ; cet auteur lui a attribué comme point de fusion 59° . Il a été préparé par Krafft ⁴⁸ en partant de la myristone et par Gascard ⁴³ en partant de l'iodure de céryle ; tous deux lui donnent le même point de fusion : $59,5^{\circ}$.

T. E. Thorpe et J. Holmes ⁴⁹ retirent des feuilles de tabac de provenance américaine un mélange d'hydrocarbures. Par cristallisations répétées dans l'éther, ils peuvent isoler un hydrocarbure fondant à $59,3-59,8^{\circ}$ qui est identique à l'heptacosane.

Plus tard, en 1907, Power et Tutin ⁵⁰ ont trouvé un carbure de la formule $C^{27}H^{56}$ dans le *Lippia scaberrima* (Sond.) et en 1910 Klobb et Garnier ⁵¹ l'ont isolé également des fleurs de *Tussilago farfara* (L.). Leur heptacosane fond alors à $57-59^{\circ}$.

En 1924, Damoy ⁴⁵ confirme sa présence dans la cire d'abeilles. Il a eu sous la main un corps très pur, fondant à la même température que le produit synthétique de Gascard, à $59,5^{\circ}$.

L'heptacosane paraît exister dans la graisse du style de maïs en proportion très faible par rapport au Nonacosane $C^{29}H^{60}$.

Le corps que nous avons isolé fond à $60-61,5^{\circ}$. Si l'on accepte que son point de fusion théorique soit $59,5^{\circ}$, il faut admettre que notre corps contient une petite quantité de son homologue supérieur.

47. FR. SCHWALB : *Ann.* 1886, 235, 106.

48. KRAFFT : *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1882, 15, 1687.

49. T.-E. THORPE et J. HOLMES : *Journ. chem. Soc. London*, 1901, 79, 982.

50. F.-B. POWER et F. TUTIN : *Arch. d. Pharm.*, 1907, 245, 337.

51. KLOBB, GARNIER et EHRWEIN : *Bull. Soc. Chim. France*, 1910, 7, 947.

Le poids minuscule d'heptacosane qui était à notre disposition ne nous a pas permis de pousser la purification plus loin. Le carbure se sépare du mélange benzène-alcool sous forme de lamelles ou de filaments brillants. Il est très soluble dans le benzène à chaud et soluble à froid, peu soluble dans l'alcool.

Nonacosane $C^{29}H^{60}$.

Un carbure a été isolé en 1889 par Börner⁵² qui le trouva dans l'arnica. Son point de fusion correspond à celui du nonacosane, mais l'auteur attribue à ce corps la formule $C^{30}H^{62}$.

T. B. Wood⁵³ a retiré en 1896 de *Cannabis indica* (Lam.) le nonacosane. Il signale comme point de fusion 63,5-64°.

Ekecrantz et Lundström⁵⁴ en 1910 ont trouvé le nonacosane dans le produit de la distillation sèche de la cire.

Klobb, Garnier et Ehrwein⁵¹ ont isolé en 1910 des fleurs de *Matricaria chamomilla* (L.) un carbure auquel ils ont donné la formule $C^{29}H^{60}$; mais son point de fusion est beaucoup plus bas (52-54°) que celui qui a été adopté plus tard pour ce carbure.

En 1924, Damoy⁴⁵ a isolé le nonacosane dans la cire d'abeilles et il a trouvé un point de fusion : 63,5°.

Klobb et ses collaborateurs ont utilisé un procédé intéressant pour la purification du nonacosane. Ils ont dissout la graisse totale dans l'acétone. Les carbures, peu solubles dans ce solvant, précipitent. Le nonacosane est isolé par cristallisations répétées. Pour enlever les impuretés qui souillent encore le produit, ils maintiennent le carbure pendant quelque temps dans un verre de montre à 80°. Les impuretés jaunes se déposent et collent aux parois. Le carbure pur peut être décanté.

Le nonacosane que nous avons isolé du style de maïs constitue la plus grande proportion du mélange des trois carbures. Après une longue purification, le carbure fond à 63,3-63,6°. Le point de fusion théorique est 63,5°.

52. BORNER : *Gazz. chim. Italiana*, 1889, 29, 1.

53. T.-B. WOOD : *Journ. chem. Soc. London*, 1896, 69, 539.

54. Th. EKECRANTZ et LUNDSTRÖM : *Arch. d. Pharm.*, 1910, 248, 500.

Le nonacosane cristallise dans le benzène sous forme de lamelles blanches et brillantes, qui se colmatent facilement pendant l'essorage. Il est bien soluble dans le benzène à chaud, peu à froid. Sa solubilité dans l'alcool est faible.

La combustion du corps isolé donne les résultats suivants :

Substance : 4,450 mg.; CO_2 : 13,885 mg.; H_2O : 5,710 mg.

	Trouvé	Théorie
C p. 100.	85,09	85,29
H p. 100.	14,26	14,71

Hentriacontane $\text{C}^{31}\text{H}^{64}$.

Krafft ⁴⁸ a obtenu ce carbure par la voie synthétique en partant de la palmitone.

Gascard ⁴⁹ l'a préparé en partant de l'iodure de myricyle.

Ces auteurs attribuent à ce carbure synthétique les points de fusion 68° et 69°.

Le corps fut isolé pour la première fois par Schwalb ⁴⁷ d'un produit naturel, la cire d'abeilles. Schwalb signale comme point de fusion 68°.

Beaucoup plus tard, Damoy ⁴⁵ a confirmé les recherches de Schwalb et propose de fixer le point de fusion de ce carbure à 68,4°.

Le nombre des plantes qui renferment de l'hentriacontane est considérable.

Des chimistes américains, F.-B. Power et ses collaborateurs ont fait des recherches systématiques au cours desquelles ils ont rencontré l'hentriacontane dans une douzaine de plantes.

Dans les grains de *Brucea sumatrana* (Roxb.) ⁵⁵ il existe un carbure de la formule $\text{C}^{31}\text{H}^{64}$ (point de fusion 67-68°).

Le même corps se retrouve dans les feuilles de *Gymne-ma silvestre* (R.Br.) ⁵⁶ (point de fusion 68°).

55. F.-B. POWER et F.-H. LEES: *Chem. Zentralblatt*, 1903, 2, 893.

56. F.-B. POWER et F. TUTIN: *Chem. Zentralblatt*, 1904, 2, 1418.

Dans la matière insaponifiable de la graisse retirée des fleurs et feuilles de *Grindelia robusta* (Nutt.)⁵⁷ Power signale un hentriacontane fondant à 68°.

Par une distillation fractionnée de la graisse de *Lippia Scaberrima* (Sond.)⁵⁰ Power et Tutin ont recueilli un carbure dans la fraction qui distille à 265°-330°, sous une pression de 15 mm. Après purification, ce carbure fond à 68°. Il est identique à l'hentriacontane.

On a signalé la présence d'un hydrocarbure $C^{31}H^{64}$ fondant à 66°-67° dans *Micromeria Chamissonis* (Greene)⁵⁸.

Le même corps a été isolé dans les feuilles de *Oléa europaea* (L.)⁵⁹ (point de fusion 68°-69°).

L'hentriacontane existe de plus dans le *Citrullus Colocynthis* (Schrad.)⁶⁰ (point de fusion 68°), dans les feuilles du *Prunus serotina* (Ehrh.)⁶¹ et dans le *Trifolium pratense* (L.)⁶². Le carbure $C^{31}H^{64}$ du *Trifolium pratense* (L.) fond à 65°.

Il existe un hydrocarbure dans le *Withania somnifera* (Dun.)⁶³ que Power et Salway ont purifié par cristallisations fractionnées dans un mélange alcool-acétate d'éthyle. Il est identique à $C^{31}H^{64}$ et fond à 67-68°.

Un hentriacontane isolé de *Humulus Lupulus* (L.)⁶⁴ cristallise en paillettes nacrées (point de fusion 68°).

Les feuilles de tabac⁴⁹ renferment également ce carbure.

La cire de Ghedda⁶⁵ contient le même corps (point de fusion 68,5°-69°).

On signale aussi la présence de l'hentriacontane dans

57. *Ibid.*, 1906, 2, 1623.

58. POWER et A.-H. SALWAY : *J. amer. chem. Soc.*, 1908, 30, 251.

59. F.-B. POWER et TUTIN : *Journ. chem. Soc. London*, 1908, 93, 891.

60. F.-B. POWER et C.-W. MOORE : *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 99.

61. *Ibid.*, 1910, 97, 1099.

62. POWER et A.-H. SALWAY : *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 231.

63. *Ibid.*, 1911, 99, 490.

64. POWER et TUTIN : *Journ. chem. Soc. London*, 1913, 103, 1267.

65. A. LIPP et E. KUHN : *J. prakt. chem.*, 1912, 86, 197; 1919, 99, 259.

le *Trifolium incarnatum* (L.)⁶⁶ et dans le *Clematis Vitalba* (L.)⁶⁷.

C. Hart et F.-W. Heyl⁶⁸ retirent du *Syzygium Jambolana* (D. C.) un carbure qui fond à 63°. D'après les résultats d'une analyse élémentaire, les auteurs lui attribuent quand même la formule $C^{31}H^{64}$.

Ce carbure existe en faible proportion dans le mélange étudié. Nous trouvons le point de fusion 67,7°-68,2°.

La littérature récente donne pour le même corps un point de fusion 68,4°. La forme cristalline est celle attribuée au nonacosane ; de même les solubilités ne sont pas sensiblement modifiées par rapport au $C^{29}H^{60}$.

La trop faible quantité de ce corps en notre possession ne nous a pas permis de poursuivre plus avant son identification complète.

II. — Alcools de poids moléculaire élevé.

Stérols.

Les stérols sont des alcools non saturés à poids moléculaire élevé, riches en hydrogène et dans lesquels le rapport entre le carbone et l'hydrogène se rapproche des polyterpènes.

Ils cristallisent dans l'éther sous forme d'aiguilles anhydres, dans l'alcool dilué en plaques renfermant une molécule d'eau de cristallisation. Ils donnent des réactions colorées caractéristiques avec l'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré.

Les stérols forment des produits d'addition insolubles avec le digitonoside et possèdent la propriété physiologique importante de supprimer la toxicité des saponosides.

Comparé au nombre énorme de stérols qu'on a signalé jusqu'ici en phytochimie, le nombre de ceux d'entre eux qui sont bien définis et dont on connaît la constitution est très petit.

66. H. ROGERSON: *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 1004.

67. F. TUTIN et B. CLEWER: *Journ. chem. Soc. London*, 1914, 105, 1845.

68. C. HART et F.-W. HEYL: *J. amer. chem. Soc.*, 1916, 38, 2805.

Cholestérol.

Le stérol d'origine animale le plus connu est le cholestérol. Sa formule brute, $C^{27}H^{46}O$ a été mise au point définitivement par Reinitzer⁶⁹.

Des recherches sur la constitution du cholestérol ont démontré dans la suite que c'est un alcool monovalent, renfermant une liaison éthylénique. Il est composé de quatre anneaux condensés et d'une chaîne latérale de 8 atomes de carbone.

Ergostérol.

Le phytostérol qui aujourd'hui a le plus d'importance est sans conteste l'ergostérol. Ce stérol se transforme sous l'influence des rayons ultraviolets en plusieurs autres stérols dont le calciférol qui a été identifié à la vitamine D.

L'ergostérol possède, d'après Windaus et Lüttringhaus⁷⁰, la formule empirique $C^{28}H^{44}O$, ce qui modifie la formule ancienne $C^{27}H^{42}O$.

Sitostérol.

D'après l'état actuel de nos connaissances, le sitostérol est très répandu dans le règne végétal.

Il fut signalé pour la première fois par Burian⁷¹ qui l'a isolé des germes de seigle et de froment. Burian caractérise le sitostérol comme un isomère du cholestérol, donc lui attribue la formule $C^{27}H^{46}O$. Seulement des travaux très récents ont corrigé cette erreur.

Sandqvist et Bengtsson⁷² ont démontré en 1931 que la molécule du sitostérol renferme 29 atomes de carbone et que sa vraie formule est $C^{29}H^{58}O$.

Longtemps le sitostérol était considéré comme un corps homogène. Anderson et Shriner⁷³ ont constaté qu'en réalité le sitostérol est composé de plusieurs stérols isomères;

69. E. REINITZER : *Monatsh.*, 1888, 9, 421.

70. A. WINDAUS et LÜTTRINGHAUS : *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen*, 1932, 4, 1.

71. R. BURIAN : *Monatsh.*, 1897, 18, 551.

72. H. SANDQVIST et E. BENGTSSON : *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1931, 64, 2167.

73. ANDERSON et SHRINER : *J. amer. chem. Soc.* 1926, 48, 2976.

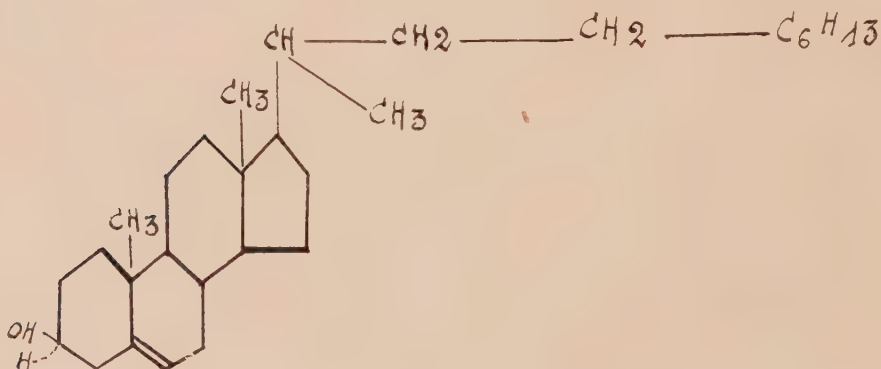
ils les appelaient α -, β - et γ - sitostérol. Souvent ce complexe de sitostérol est accompagné dans les végétaux par le dihydrositostérol, alcool saturé correspondant; non moins souvent le nombre des stérols dans une plante est augmenté par la présence du stigmastérol $C^{29}H^{48}O$.

La séparation d'un mélange de sitostérol et de stigmastérol est aujourd'hui possible grâce à une méthode établie par Windaus et Hauth ⁷⁴ (Séparation des dérivés acétylés-bromés).

La séparation parfaite des isomères du sitostérol se heurtait jusqu'ici à de nombreuses difficultés.

Ainsi il n'est pas étonnant que les travaux sur la constitution de ces corps ne soient pas achevés à l'heure actuelle.

Quand même les recherches de Ruzicka ⁷⁵, Dalmer ⁷⁶ et Fernholz ⁷⁷ sont concordantes pour la formule suivante, représentant un des isomères du sitostérol:



Le sitostérol est déjà devenu un produit industriel. Les matières premières utilisées pour sa préparation sont l'huile de maïs, l'huile de germe de froment et l'huile de soja.

Stigmastérol.

Ce stérol fut isolé par Windaus ⁷⁴ dans la fève de Cala-

74. A. WINDAUS et HAUTH : *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1906, 39, 4378.

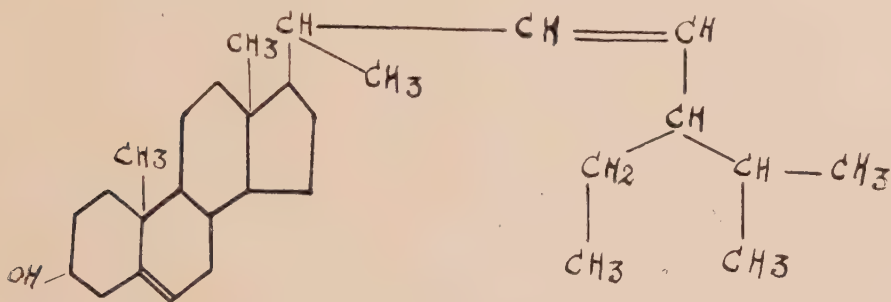
75. RUZICKA et EICHENBERGER : *Helv. Chim. Acta*, 1935, 18, 430.

76. O. DALMER : *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1935, 68, 1814.

77. E. FERNHOLZ : *Ann.* 1934, 508, 218.

bar. Il est différent de sitostérol par la présence de deux liaisons éthyléniques dans sa molécule. D'après Sandqvist⁷⁸ sa formule empirique est $C^{29}H^{48}O$.

Le stigmastérol est plus facile à isoler à l'état pur. Sa structure moléculaire est parfaitement connue. Les travaux de Fernholz⁷⁹ et Guiteras⁸⁰ ont permis d'arrêter la formule suivante pour ce stérol :



Afin d'avoir des termes de comparaison pour nos propres études, nous rapportons les constantes physiques des stérols les mieux connus dans le tableau suivant⁸¹.

Les chiffres indiqués pour les isomères du sitostérol correspondent à l'état actuel de nos connaissances et peuvent encore subir des changements.

Partie expérimentale.

Nous avons retiré de la partie insaponifiable de la graisse un mélange de corps bien cristallisé auxquels il faut attribuer la nature des stérols.

Les stérols totaux pèsent 92 gr. provenant de 800 grammes de graisse totale, retirée de 30 kg. de styles de maïs.

Séparation des stérols par cristallisation.

La séparation du mélange des stérols contenus dans l'insaponifiable brut s'effectue sans difficulté mais néces-

78. H. SANDQVIST et GORTON: *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1930, 63, 1935.

79. E. FERNHOLZ: *Ann.*, 1933, 507, 128; 1934, 508, 215.

80. A. GUITERAS: *Z. physiol. Chem.*, 1933, 214, 89.

81. *Sammlung chem. und chem.-techn. Vorträge*, 1936, 29, 111 (Dr. H. LETTRE et Dr. H. INHOFFEN. Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Stoffe.)

	Formule	Point de fusion Stérol	$[\alpha]_D^{20}$ Stérol (Sol. CHCl ₃)	Point de fusion Acétate	$[\alpha]_D^{20}$ Acétate (Sol. CHCl ₃)	Point de fusion Benzoate	Nombre de liaisons éthyléniques	Indice d'iode
Stignastérol.	C ²⁹ H ⁴⁸ O	170°	— 45,0°	141°	—	160°	2	123,3
Sitostérol.	C ²⁹ H ⁵⁰ O	137°-138°	— 33,9°	127°	—	145,5°	1	61,3
α.	C ²⁹ H ⁵⁰ O	135°-136°	— 13,4°	127°-128°	— 17,2°	—	1	61,3
β.	C ²⁹ H ⁵⁰ O	139°-140°	— 36,1°	127°-128°	— 39,0°	—	1	61,3
γ.	C ²⁹ H ⁵⁰ O	142°	— 44,8°	143°	— 46,8°	—	1	61,3
Sitostanol.	C ²⁹ H ⁵² O	143°-145°	+ 28,0°	144°-145°	+ 12,4°	—	0	0
Stigmastanol.	C ²⁹ H ⁵² O	134°-135°	+ 28,0°	128°	+ 15,7°	—	0	0

site une longue série de cristallisations successives dans l'acétone et dans l'alcool.

Nous avons essayé différents solvants, tels l'acétone, l'éther, l'éther de pétrole, l'alcool éthylique dilué ou concentré, l'alcool méthylique.

Finalement, la technique suivante a été suivie par nous :

a) Séparation des stérols de l'insaponifiable total :

1° par l'alcool à 90°.

2° par l'adsorption.

b) Séparation des stérols entre eux par l'acétone.

a) Séparation des stérols de l'insaponifiable total.

1° *par l'alcool à 90°.*

Pour la séparation des stérols de l'insaponifiable total, nous dissolvions le mélange à chaud dans l'alcool à 90° et séparions par refroidissement la partie déposée. Après de nombreux fractionnements qui demandèrent des semaines nous avons obtenu les stérols totaux.

Caractères des stérols totaux :

Ils se présentent sous la forme d'une masse blanche cristalline, fusible entre 132° et 139°. Les rayons ultra-violetes filtrés par un écran de Wood, produisent une fluorescence bleu-violet intense. Les réactions classiques de Liebermann et Salkowski sont positives.

Un essai rapide de fractionnement par l'éther nous a permis d'isoler facilement une fraction fusible à 139° ayant un indice d'iode de 117 et un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -48^{\circ}20$ dans le chloroforme.

Les autres fractions ont un point de fusion inférieur à 139° et montrent une fluorescence beaucoup moins intense sous rayons ultra-violetes. De plus, le pouvoir rotatoire toujours lévogyre est également plus faible.

Ceci démontre la présence d'au moins deux stérols dans le complexe.

2° Séparation par adsorption.

La technique que nous avons employée jusqu'ici pour la séparation des stérols ne peut pas donner un rendement quantitatif.

Elle nous a quand même permis de retirer 90 p. 100 des stérols contenus dans la matière insaponifiable. Mais il restera toujours des eaux mères contenant encore une quantité appréciable de stérols et de carbures.

C'est cet inconvénient qui nous a déterminé à essayer la séparation par adsorption.

Depuis quelques années on utilise avec succès les méthodes d'adsorption en chimie végétale.

C'est ainsi que Winterstein⁸² a séparé un stérol de la formule $C^{29}H^{47}OH$ et un hydrocarbure $C^{29}H^{46}$. C'était surtout cette publication qui nous avait encouragé à appliquer la méthode de l'adsorption dans notre cas.

Un autre exemple classique qui prouve la valeur de l'analyse d'adsorption est la séparation et la purification de la vitamine A par Karrer⁸³ et par Heilbronn⁸⁴.

L'appareil que nous avons employé consiste en un simple tube de verre de 40 cm. de longueur et de 4 cm. de diamètre intérieur.

L'extrémité inférieure du tube est fermée par un bouchon percé. L'écoulement du solvant est réglé par une pince. Le tube est rempli par la matière adsorbante après avoir mis un peu de coton de verre au fond du tube. Le mélange à séparer est dissout dans un solvant choisi; on fait passer cette solution par le tube d'adsorption. Au besoin, cette opération s'effectue sous pression. L'examen du liquide qui a passé dans le tube montre qu'il y a eu adsorption.

Théoriquement, le nombre des matières adsorbantes est très grand. On préfère aujourd'hui des silicates d'aluminium, le carbonate de chaux et le sucre en poudre.

La grande difficulté de laquelle dépend le succès de la technique est de trouver pour chaque cas l'adsorbant et les solvants les plus efficaces.

Nous avons utilisé successivement les adsorbants suivants :

1. Charbon végétal (poudre).

82. A. WINTERSTEIN et G. STEIN : *Z. physiol. Chem.*, 1931, 202, 222.

83. P. KARRER : *Helv. Chim. Acta*, 1931, 14, 1036, 1431.

84. I.-M. HEILBRONN, *Biochem. J.*, 1932, 26, 1178.

2. Charbon végétal (granulé).
3. Silicagel (silicate d'aluminium préparé spécialement).
4. Carbonate de calcium.

Nous nous sommes servis comme solvants et éluants de

1. L'éther.
2. L'éther de pétrole.
3. L'acétone.
4. Le chloroforme.

Nous avons essayé de nombreuses combinaisons sans succès et nous avons finalement abandonné la technique. Nous avons bien réussi à éliminer la matière colorante avec le charbon, mais le mélange stérols-carbures contenu dans les eaux mères dont nous sommes partis ne s'est pas séparé.

Pour récupérer la petite quantité de produits adsorbés, nous faisons bouillir avec du chloroforme tous les adsorbants employés au cours de nos essais.

Nous reconstituons ainsi le mélange initial contenu dans les eaux mères.

Après cet échec, nous avons essayé une séparation des stérols sous la forme d'acétates.

On fait bouillir pendant 30 minutes le mélange stérols-carbures avec un excès d'anhydride acétique. L'opération terminée, on enlève l'excès de l'anhydride acétique par lavage à l'eau saturée de carbonate acide de sodium. On extrait ensuite à l'éther.

La solution étherée neutre qui contient des carbures et des acétates de stérols est mise à cristalliser; par recristallisation fractionnée dans l'alcool à 90° on sépare une petite quantité d'un acétate qui montre une fluorescence très faible. Après saponification, ce stérol est joint à la partie déjà isolée.

Les eaux mères contenaient donc un peu de stérol fluorescent isolé à côté sans doute de stérols non fluorescents et de carbures non séparés.

b) Séparation des stérols entre eux par l'acétone.

L'acétone permet également une séparation relativement facile du stérol fluorescent, ce dernier étant peu so-

luble dans ce solvant. Cette insolubilité est cependant fonction de la richesse en produits connexes.

I. — *Utilisation du pouvoir rotatoire et de la fluorescence.*

Nous avons fait 18 fractionnements sur lesquels nous avons déterminé le point de fusion au microscope à platine chauffante, le pouvoir rotatoire calculé sur la déviation observée, en solution à 3-4 p. 100 dans le chloroforme, et l'intensité de la fluorescence aux rayons ultra-violet filtrés.

Fractions	Point de fusion	$[\alpha]_D^{20}$	Remarques
1	134°-135°	— 36,95°	peu fluorescent.
2	134°-135°	— 35,44°	—
3	139°-142°	— 50,67°	très fluorescent.
4	132°-135°	— 34,25°	très peu fluorescent.
5	129°-132°	— 35,16°	
6	131°-135°	— 39,14°	
7	135°-142°	— 44,56°	très fluorescent.
8	132°-139°	— 45,68°	—
9	135°-136°	— 37,53°	peu fluorescent.
10	133°-136°	— 38,60°	
11	131°-138°	— 41,19°	
12	135°-136°	— 39,92°	
13	128°-135°	— 35,90°	très peu fluorescent.
14	130°-138°	— 33,29°	
15	125°-139°	— 34,81°	
16	140°-142°	— 50,53°	très fluorescent.
17	133°-136°	— 39,75°	
18	136°-140°	— 35,36°	

Il ressort de ce tableau que nous n'avons pas complètement réalisé l'espoir que nous avons mis dans le mode opératoire.

Par un simple contrôle de la fluorescence nous ne pouvons pas décider si les fractions très fluorescentes ont atteint leur maximum de pureté. Par contre, nous n'avons

pu isoler une fraction non fluorescente. Comme certains acides gras, les stérols forment souvent des mélanges eutectiques qui résistent à une séparation par les moyens généralement mis en œuvre.

C'est pourquoi beaucoup de ces 18 fractions ont un point de fusion peu net qui s'étend sur plusieurs degrés, quoique leur forme cristalline parfaitement nette fasse croire à un corps unique possédant une fusion instantanée.

Nous pouvons tout de même prévoir que nous sommes en présence du sitostérol. Sauf dans les fractions 3 et 16 les chiffres se rapprochent de ceux que la littérature signale pour le sitostérol ou ses isomères. Le pouvoir rotatoire et le point de fusion des fractions 7 et 8 permettraient de penser au γ -sitostérol. Mais il est invraisemblable qu'une séparation aussi pénible que celle du γ -sitostérol ait réussi dès le premier traitement.

Nous avons en effet vérifié que ce produit était un mélange.

Par des cristallisations répétées, nous avons scindé plus tard les fractions 7 et 8 en sitostérol et en un stérol ayant le pouvoir rotatoire -50° .

Certainement il faut attribuer la fluorescence à ce dernier stérol. Les fractions du sitostérol possédant une légère fluorescence sont souillées par des quantités variables du stérol fluorescent.

C'est sans doute la raison pour laquelle tous les points de fusion sont de quelques degrés trop bas.

On ne signale dans la littérature que quatre stérols possédant un pouvoir rotatoire dont l'ordre de grandeur égale -50° .

1. *Stérol de l'huile de Brassica* ⁸⁵ — point de fusion 148° .

$$[\alpha]_D^{20} = -64,5^\circ.$$

Acétate : point de fusion 157° - 158° .

2. *Stérol de Lupinus luteus* (L.) ⁸⁶ — point de fusion 158° - 159° .

$$[\alpha]_D^{20} = -49,60^\circ.$$

Benzoate : point de fusion 145° .

85. A. WINDAUS et E. WELSCH : *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1909, 42, 612.

86. E. SCHULZE et J. BARBIERI : *J. prakt. chem.*, N. F. 1882, 25, 165.

3. *Stérol d'Uragoga Ipecacuanha* (Baill.)⁸⁷ — point de fusion 160°-162°.

$$[\alpha]_D^{20} = -53,90^\circ.$$

Acétate : point de fusion 139°-140°.

4. *Stérol de Cluytia similis* (Roxb.)⁸⁸ — point de fusion 159°.

$$[\alpha]_D^{20} = -52,60^\circ.$$

Acétate : point de fusion 139°.

Jusqu'ici aucun de ces corps ne paraît être identique au stérol fluorescent retiré du style de maïs.

Nous nous rendons compte que les stérols du style de maïs, répartis sur 18 fractions, ne représentent pas des corps absolument purs. Nous essaierons quand même d'interpréter les résultats de cette séparation fastidieuse.

2. — Formule brute des stérols étudiés

La détermination du poids moléculaire des stérols par les méthodes courantes (indice d'acétyle) ne donne que des valeurs approximatives.

Nous avons cependant essayé cette détermination. On peut trouver le poids moléculaire d'un alcool en déterminant l'indice de saponification de son ester acétique.

Ce procédé a été appliqué à quelques-unes des 18 fractions.

Les résultats sont groupés dans le tableau suivant (p. 81).

Mode opératoire :

1 à 2 gr. de stérol sont acétylés par ébullition avec de l'anhydride acétique pendant une demi-heure. L'acétate est soigneusement lavé à l'eau pour éliminer toute trace d'anhydride acétique libre. Sur le produit séché dans le vide sulfurique nous déterminons le point de fusion, le pouvoir rotatoire et l'indice de saponification : 0.5-1 gr. de l'acétate, exactement pesés, sont chauffés à l'ébullition pendant deux heures avec une quantité connue de potasse alcoolique décimale. On suppose qu'après ce délai

87. F.-H. CAVY et F.-L. PYMAN : *Journ. chem. Soc. London*, 1914, 105, 1591.

88. TUTIN et CLEWER : *Journ. chem. Soc. London*, 1912, 101, 2221.

l'acétate est complètement saponifié. La quantité de potasse qui s'est combinée avec l'acide acétique nous indique le poids moléculaire de l'acétate de stérol d'après la formule suivante :

$$\frac{A \times 0,0056}{B} = \text{Indice de saponification.}$$

$$\frac{56,000}{\text{Indice de saponification}} = \text{Poids moléculaire.}$$

A = Nombre de cm³ de 0,1 N KOH combinés.
B = Poids de la substance.

N°	Point de fusion Acétate	$[\alpha]_D^{20}$ Acétate	Indice de saponification	Poids moléculaire Acétate	Poids moléculaire Stérol
1	127-130°	— 41,45°	120	466	424
2	127-129°	— 40,69°	125	447	405
3	130-132°	— 50,58°	124	451	409
5	128-131°	— 42,29°	124	451	409
6	126-128°	— 44,67°	123	455	413
7	130-132°	— 45,25°	126	445	403
8	130-132°	— 47,39°	121	462	420
9	130-131°	— 43,00°	125	447	405
16	130-132°	— 50,50°	130	431	389

Les poids moléculaires calculés sont compris entre 389 et 423.

C'est l'ordre de grandeur pour un stérol normal comme l'est par exemple un sitostérol. Les poids moléculaires théoriques de ce corps et de ses homologues nous donnent un terme de comparaison.

Sitostérol.	C ³⁰ H ⁵² O	Poids moléculaire	428
	C ²⁹ H ⁵⁰ O	—	414
	C ²⁸ H ⁴⁸ O	—	400
	C ²⁷ H ⁴⁶ O	—	386

Si nous admettons la présence de deux stérols différents, l'examen des poids moléculaires nous apprend que leurs formules brutes ne sont pas très éloignées l'une de l'autre.

Les fractions très fluorescentes, qui doivent être identiques, (n^os 3 et 16), donnent des valeurs qui correspondent à un stérol en C²⁹ ou C²⁷. Les fractions peu fluorescentes, que nous supposons également identiques, sont de même des corps en C²⁹, C²⁸, ou C²⁷, le chiffre moyen se rapprochant de C²⁹.

Les fractions 6, 7, 8, dont les pouvoirs rotatoires laissent supposer un mélange des deux stérols, ne font pas exception avec le poids moléculaire.

Les deux stérols que nous n'avons pas encore complètement séparés — nous ne possédons que des fractions enrichies en l'un ou en l'autre stérol — montrent des écarts considérables dans leurs points de fusion, dans le pouvoir rotatoire et dans la propriété de la fluorescence.

Par rapport au poids moléculaire, ils sont par contre très voisins.

Les points de fusion des acétates sont plus rapprochés, mais nous pouvons quand même distinguer deux chiffres moyens. Ce sont 127°-129° pour les fractions peu fluorescentes et 130°-132° pour le stérol très fluorescent.

Il est remarquable de constater que les stérols libres correspondant aux fractions 3 et 16, que nous considérons comme le stérol le plus fluorescent, ont un pouvoir rotatoire spécifique très voisin de celui de leurs acétates. Nous sommes évidemment bien certains de n'avoir pas commis d'erreur grossière, car les alcools régénérés des acétates ont donné le même pouvoir rotatoire que les acétates primitifs.

3. — *Les liaisons éthyléniques.*

Les stérols sont des alcools non saturés. On y rencontre le plus souvent une ou deux liaisons éthyléniques, quelquefois elles sont en nombre plus élevé.

Ces corps sont capables de donner des dérivés halogénés. Théoriquement, cette réaction d'addition de l'halogène est quantitative et on l'utilise pour déterminer l'indice d'iode.

Quoique l'indice d'iode soit un dosage fréquemment employé dans la chimie des corps gras, il ne donne pas toujours des résultats très exacts.

Les fautes inhérentes aux méthodes habituelles augmentent lorsqu'on veut les appliquer aux stérols.

Par la suite, différents auteurs ont proposé des modifications dans les anciennes techniques. Le tableau qui suit indique les indices d'iode théoriques de quelques stérols.

Formule	Poids moléculaire	Nombre de liaisons éthyléniques	Indice d'iode
$C^{27} H^{46} O$	386	1	65,8
$C^{27} H^{44} O$	384	2	133,0
$C^{28} H^{48} O$	400	1	63,0
$C^{28} H^{46} O$	398	2	129,0
$C^{29} H^{50} O$	414	1	61,3
$C^{29} H^{48} O$	412	2	123,3
$C^{30} H^{52} O$	428	1	59,3
$C^{30} H^{50} O$	426	2	119,0

Pour fixer le nombre de liaisons éthyléniques des stérols du style de maïs, nous avons essayé trois réactifs différents. Les résultats sont classés dans le tableau qui suit (voir p. 85).

a) *Méthode de Hanus :*

C'est la technique classique employée depuis longtemps dans la chimie des corps gras.

La liqueur de Hanus est une solution de 8 grammes de brome et de 12,7 grammes d'iode dans un litre d'acide acétique cristallisable.

Mode opératoire : 0,1 gr. de substance, exactement pesée, sont dissous dans un flacon bouché à l'émeri dans 10 cc. de chloroforme. On ajoute à froid 25 cc. de la liqueur de Hanus. On abandonne la solution pendant une heure à

l'abri de la lumière, en agitant le flacon de temps à autre. Ensuite on ajoute 20 cc. d'une solution d'iodure de potassium à 10 p. 100 et on titre l'excès d'halogène par l'hypo-sulfite de sodium. Chaque dosage doit être accompagné d'un essai à blanc.

La méthode de Hanus ne nous a pas fourni de résultats encourageants. Cependant ils n'admettent qu'une seule interprétation.

Les fractions 3, 8 et 16 annoncent l'existence d'un stérol diéthylénique. Les fractions 1, 2, 5 et 10 par contre sont constituées par un stérol monoéthylénique.

Nous nous rendons compte que ces dosages ne peuvent pas donner des chiffres exacts, car nous opérons sur des produits impurs.

Mais la technique est aussi bien responsable des erreurs, car on a démontré que l'halogène ne réagit pas seulement avec les liaisons éthyléniques mais qu'il se forme aussi de l'acide iodhydrique et des dérivés bromo-substitués.

b) *Méthode de Hübl :*

Hübl a proposé d'utiliser une solution alcoolique d'iode et de bichlorure de mercure.

Le mode opératoire est le même que pour la méthode de Hanus, sauf que Hübl préfère opérer sur 0,5-1 gr. de substance.

Dans notre cas, la méthode s'est montrée non applicable, donnant des résultats beaucoup trop faibles pour le stérol diéthylénique.

c) *Méthode de Rosenmund :*

Pour faire des dosages en série la méthode de Rosenmund est préférable aux autres, parce qu'elle fait gagner du temps.

Le réactif de Rosenmund contient dans un litre d'acide acétique, 8 gr. de brome. 8 gr. de pyridine et 10 gr. d'acide sulfurique concentré.

On opère comme suit :

0,1 gr. de stérol sont dissous dans 10 cc. de chloroforme. Après addition de 20 cc du réactif on agite le mélange et on laisse reposer pendant 5 minutes exactement

à l'abri de la lumière. On ajoute ensuite 20 cc. d'une solution d'iodure de potassium à 10 p. 100 et on titre l'excès de l'halogène avec l'hyposulfite de sodium.

Nous pouvons constater que la technique de Rosenmund est supérieure aux autres méthodes.

Elle fournit des résultats qui n'admettent plus aucun doute sur le fait que l'un de nos stérols est monoéthylénique, l'autre par contre diéthylénique.

N°	Hanus	Hübl	Rosenmund
1	87,9	70,2	65,4
2	84,6	—	68,3
3	108,7	84,3	126,0
5	86,9	66,9	77,9
6	100,4	—	—
7	105,9	—	—
8	109,8	—	110,7
9	97,3	69,4	88,9
10	76,3	—	69,0
16	112,7	79,3	127,8

4. Dérivés des stérols.

Par le mode opératoire suivi jusqu'ici nous avons démontré la présence de deux stérols.

L'un d'eux est très probablement le sitostérol. L'autre, renfermant deux liaisons éthyléniques, semble posséder des constantes physiques qui ne permettent pas de l'identifier à l'un des stérols diéthyléniques décrits dans la littérature.

Nous croyons que ce stérol représenté par les fractions 3 et 16 est un corps pur.

En le soumettant à de nombreuses cristallisations dans l'acétone il est impossible de scinder une fraction dont le point de fusion soit supérieur à 142° et dont le pouvoir rotatoire s'élève au-dessus du chiffre maximum de $-50^{\circ}5$.

Il reste de la même grandeur pour les fractions de tête, et pour le résidu des eaux mères.

Nous avons transformé une partie de ce stérol diéthylénique en dérivé acétylé-tétrabromé, en opérant dans les conditions exigées par Windaus et Hauth⁷⁴.

Du fait que la transformation en dérivé acétylé tétrabromé a été quantitative, nous concluons à l'absence d'un stérol monoéthylénique, dans les fractions 3 et 16.

Cet acétate tétrabromé est un corps bien cristallisé qui fond à 192°. A partir de 170° on peut constater une vive décomposition gazeuse qui s'arrête à 188°.

La séparation incomplète ainsi que nous le signalons plus haut des deux stérols par des cristallisations fractionnées, nous a obligé à adopter un autre mode opératoire.

Nous choisissons la méthode de Windaus et Hauth qui a été employée avec succès dans de nombreux cas semblables.

Nous groupons toutes les fractions constituées de sitostérol impur et nous procédons de la façon suivante :

32 gr. de stérols sont acétylés en les chauffant au réfrigérant à reflux avec 1 litre d'anhydride acétique pendant une heure. Les acétates sont repris par l'éther pour les débarrasser de l'excès d'anhydride acétique. Le produit acétylé brut pèse 35 gr.

Ces 35 gr. d'acétates sont dissous dans 350 cc. d'éther. On y ajoute en une seule fois et en agitant 430 cc. d'acide acétique cristallisable contenant 5 gr. de brome par 100 cc.

Après 24 heures de repos, à une température de 18° et à l'abri de la lumière, on peut séparer par filtration 5,5 gr. d'acétate tétrabromé, sous forme d'une masse cristalline.

L'acétate dibromé reste dans ces conditions en solution, le dérivé du stérol monoéthylénique étant beaucoup plus soluble.

La masse cristalline est d'abord lavée à l'acide acétique. Des traces d'une matière non cristallisée sont ensuite enlevées par lavages à l'acétone.

Les cristaux sont ensuite purifiés par précipitation fractionnée dans un mélange chloroforme-acétone. Après plusieurs recristallisations le point de fusion de ce produit qui se montre sous le microscope sous forme de plaques

hexagonales, ne se modifie plus. Ce stérol acétylé-tétrabromé fond à 192°. Dans l'intervalle de 170° à 188° on observe un très vif dégagement de gaz.

Nous avons fait les mêmes observations relativement à la fusion de l'acétate tétrabromé préparé à partir du stérol diéthylénique pur.

Le dosage du brome donne les résultats suivants :

Substance : 9,1 mg.

Br Ag : 9,125 mg.

Br p. 100 : 42,67.

Les chiffres théoriques pour le stigmastérol et ses homologues sont :

Stérol	Dérivé acétylé tétrabromé	Poids moléculaire	Br % du dérivé acétylé tétrabromé
C ²⁷ H ⁴⁴ O	C ²⁹ H ⁴⁶ O ² Br ⁴	746	42,89
C ²⁸ H ⁴⁶ O	C ³⁰ H ⁴⁸ O ² Br ⁴	760	42,11
C ²⁹ H ⁴⁸ O	C ³¹ H ⁵⁰ O ² Br ⁴	774	41,34

D'après la teneur en brome du dérivé acétylé tétrabromé il faudrait attribuer à ce stérol la formule brute C²⁷ H⁴⁴ O. Mais ce résultat est à considérer avec réserve.

En effet, on peut rappeler que Windaus a attribué au stigmastérol la formule brute C³⁰ H⁵⁰ O en se basant sur des dosages de brome du dérivé acétylé-tétrabromé, alors qu'en réalité la formule brute du stigmastérol est C²⁹ H⁴⁸ O.

Le stérol diéthylénique libre, et également son acétate, sont très fluorescents. Le dérivé tétrabromé par contre, qui ne renferme plus de liaisons éthyléniques n'est pas fluorescent.

Windaus, lors de ses recherches sur les stérols de la fève de Calabar pensait que la méthode de séparation qu'il préconisait permettrait la séparation quantitative en stérol mono- et diéthylénique.

Nous avons constaté qu'il reste toujours de petites quantités du dérivé tétrabromé dans la solution acétique-éthé-

rée. Ce fait a été signalé également par Anderson et Nabenhauer⁸⁹. Quand ces auteurs examinèrent les stérols du son de riz, les filtrats renfermant le stérol acétylé dibromé étaient toujours souillés par des traces du dérivé acétylé tétrabromé.

L'huile de maïs contient si peu de stigmastérol que la méthode de Windaus et Hauth ne permet pas de l'isoler⁷⁸.

Des observations concordantes ont été signalées par Bonstedt⁹⁰.

Après élimination du stérol diéthylénique on laisse reposer le filtrat pendant 12 heures à une température de 15°. Après ce délai il s'est déposé au fond du ballon une petite quantité d'une poudre amorphe. C'est un mélange d'acétates dibromé et tétrabromé.

Nous avons ainsi éliminé les dernières traces du stérol diéthylénique ; le filtrat ne doit plus contenir que la totalité du dérivé acétylé dibromé. L'obtention du stérol acétylé dibromé est une opération difficile, parce que ce corps est très soluble et assez instable.

La solution éthéro-acétique de ce corps est fortement refroidie dans un mélange de glace et de sel. Après deux heures il s'est déposé un précipité amorphe très abondant qu'on sépare par filtration.

Un refroidissement prolongé du filtrat permet une seconde récolte de précipité. Mais pendant qu'on lave le précipité par l'acide acétique, la plus grande partie se redissout. Ainsi on ne retire que 3 gr. de ce dérivé.

On le purifie par recristallisations dans l'alcool absolu.

Les précautions prises n'empêchent pas que le produit subisse une légère décomposition par dissolution dans l'alcool à une température de 40°.

Nous n'avons pu pousser plus avant la purification de ce produit.

Nous l'avons obtenu sous la forme d'une poudre très peu colorée, fondant à 117°-119°.

89. ANDERSON et NABENHAUER : *J. amer. chem. Soc.*, 1926, 48, 2972.

90. K. BONSTEDT : *Z. physiol. Chem.*, 1928, 176, 269.

La teneur en brome démontre qu'il s'agit d'un sitostérol acétylé dibromé.

Dosage du brome :

Substance.	8,405 mg
Br Ag	5,400 mg
Br p. 100.	27,34

Teneur théorique en brome pour le sitostérol et ses homologues :

Stérol libre	Dérivé acétylé dibromé	Poids moléculaire	Br pour 100
$C^{27} H^{46} O$	$C^{29} H^{48} O^2 Br^2$	588	27,21
$C^{28} H^{48} O$	$C^{30} H^{50} O^2 Br^2$	602	26,57
$C^{29} H^{50} O$	$C^{31} H^{52} O^2 Br^2$	616	25,97

D'après la teneur en brome trouvée dans le stérol acétylé dibromé il conviendrait de le rapprocher de la formule $C^{27} H^{46} O$.

Nous sommes bien persuadés être en présence d'un sitostérol. Or on sait que la formule démontrée pour ce produit est $C^{29} H^{50} O$.

Le sitostérol acétylé dibromé est un corps amorphe, fondant à 120° - $120,5^{\circ}$.

Notre produit fondant à 118° - 119° semble bien être identique au produit précédent.

La solution renfermant la majeure partie du stérol acétylé-dibromé est concentrée dans le vide. Après refroidissement énergique on recueille 30 gr. d'acétate dibromé. Par les opérations suivantes nous éliminons le brome pour transformer le dérivé en acétate. Par saponification, nous régénérons ensuite le stérol monoéthylénique libre.

Dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et d'un agitateur mécanique on dissout 30 gr. d'acétate dibromé de sitostérol dans 700 cc. d'alcool absolu. On ajoute 50 cc. d'acide acétique concentré et 20 gr. de poudre de zinc. Ce mélange est maintenu à l'ébullition pendant deux heures.

Par intervalles réguliers on ajoute encore quatre fois 10 gr. de poudre de zinc.

La réduction du dérivé bromé est de beaucoup facilitée par une agitation continuelle très énergique. La solution alcoolique, d'abord brun-noir devient jaune clair et finalement presque incolore dans la mesure où le brome est réduit. Après deux heures, la réaction est terminée. On filtre la solution à chaud. Le filtrat renferme le stérol acétylé, privé de brome. Dans la solution refroidie, l'ester acétique cristallise. Après concentration des eaux mères alcooliques on fait une seconde récolte.

Le rendement de cette opération a été médiocre ; en effet, nous n'avons pu recueillir en tout que 7 gr. d'acétate de stérol.

Nous interprétons ce fait de la manière suivante.

Le stérol original renferme beaucoup de α - et de β -sitostérol.

D'après Anderson et Shriner⁷³ il est très difficile de transformer l'acétate dibromé d'un α - ou β -sitostérol en dérivé débromé. On réussit bien à enlever le brome mais la réduction énergique transforme le stérol en même temps en un alcool saturé, semblable au dihydrositostérol.

Les 7 gr. d'acétate de stérol sont ensuite saponifiés avec la potasse éthylique. Le stérol libre est retiré de la solution alcaline par agitation avec l'éther.

Le résidu laissé par l'éther est décoloré en solution acétonique par du charbon activé. Après plusieurs recristallisations dans l'acétone nous avons obtenu 5 gr. de stérol mono-éthylénique pur.

Ce produit purifié est non fluorescent. Il fond à 133°-135° et possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = -33^{\circ}79$ dans le chloroforme.

Avec l'acétate de ce produit purifié nous avons déterminé l'indice de saponification, trouvé égal à 124,1.

Le poids moléculaire pour le stérol correspondant est 409. Quoique on ne puisse pas attribuer trop d'importance à un chiffre isolé, *nous croyons avoir fourni la preuve que le stérol étudié est un sitostérol dont le poids moléculaire théorique est 414.*

Nous avons donc réussi à séparer des stérols du style de maïs, deux stérols que nous considérons comme des corps purs. Pour les mieux caractériser nous avons préparé l'acétate et le benzoate de chacun de ces deux stérols.

Préparation des esters acétiques :

1 gr. de stérol monoéthylénique est chauffé au réfrigérant à reflux avec 20 cc. d'anhydride acétique pendant une demi-heure. Après refroidissement, l'ester acétique est repris par l'éther et lavé à l'eau jusqu'à réaction neutre des eaux de lavage. Le résidu étheré est ensuite recristallisé plusieurs fois dans l'alcool éthylique à 95°. L'acétate du stérol monoéthylénique cristallise en grandes plaques minces et transparentes. Il n'est pas fluorescent tout comme le stérol libre. Le point de fusion de l'acétate reste constant à 127°-128°. Son pouvoir rotatoire déterminé en solution chloroformique est $[\alpha]_D^{20} = -40^{\circ}1$.

L'acétate du stérol diéthylénique est préparé de la même façon.

L'acétate du stérol diéthylénique cristallise également en grandes plaques minces. Soumis aux rayons ultraviolets, il montre une fluorescence aussi intense que le stérol libre. L'acétate fond à 130°-132°. Il possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = -50^{\circ}55$, observé en solution chloroformique.

Préparation des esters benzoïques.

2 gr. de stérol monoéthylénique sont dissous dans 6 gr. de pyridine. A cette solution on ajoute goutte à goutte et en agitant constamment 2 gr. de chlorure de benzoyle. Pendant toute l'opération le mélange doit être refroidi dans la glace. Après deux heures de repos dans la glace, l'ester benzoïque s'est formé. On filtre également dans la glace et on lave d'abord avec beaucoup d'eau froide, ensuite avec de l'alcool à froid à 80°.

Le benzoate du stérol monoéthylénique qui a précipité sous forme d'une masse amorphe, est recristallisé plusieurs fois dans un mélange chloroforme-alcool. L'ester ainsi purifié cristallise en feuillets incolores brillants qui fondent à 145°.

Les cristaux ne montrent aucune fluorescence.

Le benzoate possède un pouvoir rotatoire beaucoup plus faible que le dérivé acétylé. Son pouvoir rotatoire en solution chloroformique est $[\alpha]_D^{20} = -13.99$.

Nous avons préparé de la même façon le *benzoate du stérol diéthylénique*.

Il cristallise en plaques rectangulaires, brillantes, qui fondent à 148°-150°.

Le pouvoir rotatoire de ce dérivé est $[\alpha]_D^{20} = -22.97$.

Ce benzoate est aussi fluorescent que le stérol libre.

En résumé, comme nous l'avons indiqué au chapitre III, Miksic²⁹ en étudiant la partie insaponifiable de la graisse du style de maïs n'en a retiré qu'un seul stérol. En se basant sur les constantes physiques de ce stérol et de son acétate, Miksic croit qu'il s'agit d'un β -sitostérol. Nous sommes d'accord avec cet auteur sur la présence d'un sitostérol, mais d'après l'exposé précédent nous sommes persuadés de la pluralité des stérols contenus dans l'insaponifiable de la graisse du style de maïs.

En effet, nous avons isolé un deuxième stérol non encore signalé dans le style de maïs.

a) Du mélange brut des stérols nous avons retiré par une longue série de cristallisations un stérol pur constitué par les fractions 3 et 16. Ce stérol soumis aux rayons ultraviolets filtrés par un écran de Wood montre une fluorescence bleu-violet très intense.

Le point de fusion de ce corps est 140°-142°. Son pouvoir rotatoire est en moyenne $[\alpha]_D^{20} = -50.55$.

Son acétate fond à 130°-132° et possède le même pouvoir rotatoire que le stérol libre; il est également fluorescent. Ce stérol renferme deux liaisons éthyléniques ce qui est démontré par l'indice d'iode.

De plus, nous l'avons transformé en dérivé acétyl-tétrabromé. Ce dernier dérivé, qui fond à 192° avec dégagement de gaz à partir de 170° ne montre plus aucune fluorescence. Il renferme 42,67 p. 100 de brome, ce qui laisse supposer un stérol de formule $C^{27}H^{44}O$ ou bien $C^{28}H^{46}O$.

Le poids moléculaire de ce stérol, calculé sur la base

de l'indice de saponification de son dérivé acétylé conduit à une formule brute en C^{29} , C^{28} ou C^{27} .

Nous avons retiré ce même stérol diéthylénique à l'aide de la méthode de Windaus et Hauth d'un mélange de stérols renfermant en majeure partie du sitostérol.

Nous l'avons caractérisé sous forme de dérivé acétylé-tétrabromé.

Ce dérivé qui doit être un corps pur, correspond par toutes ses propriétés au dérivé acétylé-tétrabromé que nous avons préparé avec le stérol fluorescent des fractions 3 et 16.

Ceci prouve que nous avons en effet pu séparer une partie du stérol diéthylénique à l'état pur par des cristallisations successives.

Finalement nous avons transformé ce stérol diéthylénique en ester benzoïque ; ce dérivé fond à 148° - 150° et possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = -22.97$.

Il est très difficile de préciser si ce stérol est identique à un corps qui a déjà été décrit ou si nous avons isolé un corps nouveau.

Peut-être s'agit-il d'un isomère du stigmastérol ; mais jusqu'ici aucun isomère du stigmastérol n'a été isolé.

Nous pensons être en présence d'un nouveau stérol non identique au stigmastérol de Windaus car le pouvoir rotatoire de notre stérol le dépasse de plus de 5° .

Le stigmastérol possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20} = -45^{\circ}$.

De plus, son point de fusion est 170° .

Une différence de 30° pour le point de fusion est inexplicable par la présence d'une trace d'un autre corps.

Les chiffres que nous trouvons, soit par l'analyse d'un dérivé halogéné, soit par un indice d'iode ou un indice de saponification ne sont pas suffisants pour conclure à l'identité ou à la non-identité avec un corps de telle ou telle formule brute.

Nous avons signalé précédemment qu'on ne connaît actuellement que quatre stérols isolés des phanérogames, qui possèdent un pouvoir rotatoire gauche de 50° ou plus. Les écarts entre les constantes physiques de ces corps et de

notre stérol fluorescent sont d'un ordre si grand qu'une identité est inacceptable.

b) Du mélange brut des stérols du style de maïs nous avons ensuite isolé un stérol monoéthylénique réparti sur différentes fractions de cristallisation.

Toutes ces fractions sont encore souillées par du stérol fluorescent. L'examen des constantes physiques de ces fractions laisse déjà prévoir la présence d'un mélange des isomères du sitostérol. L'indice d'iode nous apprend que le corps est monoéthylénique. Le poids moléculaire moyen qui est de 409 n'est qu'une autre confirmation, le poids moléculaire théorique du sitostérol étant 414.

Par la méthode de Windaus et Hauth nous avons éliminé le stérol fluorescent. Le stérol monoéthylénique ainsi purifié présente toutes les propriétés du sitostérol.

Par la saponification de son acétate nous trouvons un poids moléculaire de 409. Le stérol ne donne plus de fluorescence. Le stérol libre fond à 133°-135°. Son pouvoir rotatoire est $[\alpha]_D^{20} = -33.79$.

Il y aura toujours de petites différences entre des sitostérols de provenance variée parce que la proportion entre les isomères ne sera jamais exactement la même.

L'acétate dibromé fond à 118°-119°; le dérivé correspondant du sitostérol fond à 120°.

L'acétate a un point de fusion de 127°-128°. Son pouvoir rotatoire est trouvé de $[\alpha]_D^{20} = -40.1$.

Le benzoate fond instantanément à 145°. Son pouvoir rotatoire est $[\alpha]_D^{20} = -13.99$.

Les constantes de ces deux esters sont en parfait accord avec les constantes théoriques des mêmes esters du sitostérol.

Nous croyons que cette comparaison apporte des preuves suffisantes pour affirmer l'identité du sitostérol et du stérol monoéthylénique que nous avons isolé du style de maïs.

CHAPITRE VI

Etude des produits solubles dans l'alcool.

Au chapitre IV nous avons signalé que les styles de maïs renferment une quantité très élevée de sels de potassium. La seule présence de ces sels justifierait déjà d'une façon satisfaisante les propriétés diurétiques attribuées aux préparations pharmaceutiques de cette drogue. Cependant, il serait possible que d'autres corps soient également responsables de cette action thérapeutique. Pour résoudre cette question, nous avons orienté nos recherches sur la présence éventuelle d'un alcaloïde, d'un hétéroside ou d'un acide aminé dans les styles de maïs.

A. — Recherche des sucres et hétérosides.

L'extrait qui nous a servi pour la recherche des sucres et des hétérosides était un extrait hydro-alcoolique.

500 gr. de styles secs, pulvérisés, sont épuisés à chaud avec un litre d'alcool à 90°, en présence de carbonate de calcium. On maintient l'ébullition pendant une heure; le jus alcoolique est ensuite séparé par filtration et expression. Ce filtrat est concentré dans le vide, à une température ne dépassant pas 35°, jusqu'à distillation complète de l'alcool.

Le résidu aqueux est privé des graisses par agitation avec de l'éther et la solution étherée est décantée. La solution aqueuse est privée de l'éther en solution, puis complétée à un volume de 500 cc. avec de l'eau distillée, c'est-à-dire que 1 cc. de cette préparation correspond à 1 gr. de style de maïs sec.

Après avoir constaté dans un essai préliminaire les pro-

priétés réductrices et le pouvoir rotatoire de ce soluté, nous avons essayé d'y caractériser les oses réducteurs par leurs osazones.

Nous avons opéré de la façon suivante :

a) Défécation du soluté aqueux par l'acétate neutre de plomb qui précipite les matières protidiques, les tannins, les matières colorantes et laisse en solution les sucres.

b) Préparation de l'osazone.

25 cc. de la solution déféquée, devenue limpide et incolore sont additionnés de 5 cc. de solution acétique de phénylhydrazine. On chauffe ce mélange pendant une heure au bain-marie. Il se forme un précipité jaune abondant constitué par des microcristaux.

Ces cristaux sont séparés par filtration à chaud. Dans le filtrat limpide il apparaît après refroidissement un second précipité cristallin, beaucoup moins abondant que le premier.

Le premier précipité cristallin, séparé à chaud, est lavé à l'eau, puis à l'alcool méthylique. Les cristaux jaune clair sont ensuite séchés à basse température.

Le fait même que cette osazone est peu soluble dans l'eau chaude et dans l'alcool méthylique nous indique que le sucre est probablement du glucose ou du galactose.

Le point de fusion trouvé: 225° (Bloc de Maquenne), ne correspond pas tout à fait au point de fusion généralement admis pour la glucosazone qui est 230°-232°, mais l'examen de la forme cristalline ne laisse aucun doute: le produit obtenu est de la *glucosazone* absolument identique à celle que nous avons obtenue avec du glucose pur.

Les cristaux se montrent au microscope sous la forme de fines aiguilles jaunes, groupées en pinceaux ou en éventail.

La formation de cette glucosazone permet de conclure à la présence de glucose, ou préexistant ou provenant de l'hydrolyse du saccharose.

Le second précipité est soluble dans l'eau chaude et dans l'alcool méthylique. C'est de la *maltosazone*.

Pour précipiter la totalité du maltose sous forme de

maltosazone, nous avons préparé de nouveau les osazones mais en évitant la présence d'acide acétique libre susceptible d'hydrolyser le maltose en ses constituants.

Nous utilisons dans ce but une solution ainsi préparée :

Chlorhydrate de phénylhydrazine	3 g.
Acétate de sodium	2,5 g.
Eau	30 cc.

5 cc. du réactif ci-dessus sont ajoutés à 25 cc. de la solution sucrée. La glucosazone est séparée par filtration à chaud. Les cristaux de maltosazone précipitent après refroidissement du filtrat en quantité plus importante que lors du premier essai. Ils sont recristallisés deux fois dans l'eau chaude. Le point de fusion instantané du produit est alors de 204°.

Le point de fusion de la maltosazone témoin est de 206°. Sous le microscope, les deux produits se montrent identiques : lamelles isolées ou groupées en rosaces.

La recherche du saccharose et des β -glucosides a été conduite selon la méthode biochimique de Bourquelot. Nous nous dispensons d'exposer cette méthode devenue classique. Elle consiste à rechercher, caractériser et doser le saccharose et les glucosides dédoublables par l'émulsine, en se servant des ferments invertine et émulsine.

Nous donnons simplement le résultat de cet essai.

Dosage des sucres réducteurs avant l'action de l'invertine :

10 cc. de solution déféquée renferment 49 mg^e de sucre exprimé en glucose.

Déviation (tube de 20 cm.) : $\alpha = -0^{\circ}20'$.

La solution non traitée par l'acétate de plomb est additionnée de 0,5 gr. d'invertine fraîchement préparée.

Dosage des sucres réducteurs après l'action de l'invertine :

10 cc. de solution déféquée renferment 49 mg. de sucre

Déviation : $\alpha = -0^{\circ}18'$.

Après suppression de l'invertine par la chaleur on introduit dans l'extrait sucré 0,5 gr. d'émulsine.

Quatre examens à intervalle d'un jour donnent le même résultat.

Dosage des sucres réducteurs après l'action de l'émulsine :

10 cc. de solution déféquée renferment 48 mg. de sucre.
Déviation : $\alpha = -0^{\circ}20'$.

Donc, aucun β -glucoside n'était présent dans la solution.

Après cet essai biochimique on peut tirer les deux conclusions suivantes :

1° L'extrait ne renferme pas de saccharose.

2° L'extrait ne renferme pas de glucoside dédoublable par l'émulsine.

L'extrait que nous examinons contient environ 1 p. 100 de sucres réducteurs. En préparant les osazones, nous avons pu démontrer *la présence du glucose et du maltose*. Les deux sucres sont fortement dextrogyres.

Il faut donc admettre également la présence d'une quantité appréciable de lévulose venant de sucre interverti, pour expliquer la déviation légèrement gauche de l'extrait sucré.

Le sucre interverti préexiste-t-il dans les styles de maïs avant leur dessiccation ? Il est très probable que l'organe vivant renferme du saccharose comme de nombreuses plantes et que celui-ci a été dédoublé au cours de la dessiccation de la drogue. Il n'est pas douteux que dans les styles de maïs du commerce que nous avons étudiés, le saccharose n'existait plus.

De même, nous ne pouvons pas conclure si une partie du glucose isolable sous forme d'osazone préexiste à l'état libre dans les styles de maïs.

Les sucres que nous avons rencontrés dans l'extrait de style de maïs : glucose et maltose sont réducteurs et ont été dosés ici par un seul dosage que nous exprimerons en totalité sous forme de glucose.

Le style de maïs renferme environ 1 p. 100 de son poids de sucres réducteurs exprimés en glucose. Une hydrolyse acide aurait permis d'évaluer la quantité de maltose.

Nous avons déjà signalé que l'extrait de style de maïs ne renferme aucun hétéroside dédoublable par l'émulsine.

Depuis les recherches classiques de Bourquelot on sait que ce ferment dédouble un grand nombre de glucosides,

mais qu'il existe aussi des hétérosides qui résistent à l'action de l'émulsine.

Dans ces derniers cas, il faut opérer avec un ferment spécifique. On sait aujourd'hui que c'est en général la plante elle-même qui produit à côté d'un hétéroside donné le ferment spécifique capable de l'hydrolyser. La méthode de Bourquelot a donc été appliquée en remplaçant le ferment émulsine dans l'essai biochimique par une poudre fermentaire préparée à partir de la plante étudiée.

Nous avons appliqué cette technique sur l'extrait du style de maïs. L'essai a été négatif. Nous pouvons par suite affirmer que les styles de maïs secs du commerce ne renferment aucun hétéroside caractérisable par les méthodes classiques employées.

B. — Recherche des alcaloïdes.

On sait qu'il existe très peu de plantes à alcaloïdes chez les Graminées; néanmoins nous avons tenu à rechercher leur présence dans les styles de maïs. Signalons tout de suite que H. Vassal ²⁶ avait déjà tenté cet essai avec un résultat négatif.

L'extrait hydro-alcoolique préparé comme lors de la recherche des sucres est concentré jusqu'à la consistance sirupeuse.

L'épuisement de cet extrait en milieu neutre et en milieu alcalin par l'éther et le chloroforme donne un très faible résidu résineux ne présentant en rien les réactions générales de précipitation des alcaloïdes.

C. — Recherche des acides aminés.

Nous avons utilisé un extrait alcoolique dégraissé obtenu dans les conditions décrites page 38 à partir de 50 kg. de styles de maïs secs.

Cet extrait hydro-alcoolique est une solution de couleur brun-foncé. Sa réaction est nettement acide. Il a une saveur amère et une odeur très caractéristique rappelant assez la

peptone ou l'extrait d'ergot de seigle. Concentré à l'état sirupeux, il laisse déposer une petite quantité d'une matière cristalline qui est constituée par des sels minéraux.

L'extrait fluide, chauffé à l'ébullition mousse abondamment. Cette propriété se révèle également après agitation de l'extrait à froid.

Chauffé en milieu légèrement alcalin, le produit dégage de l'ammoniaque en abondance. Avec l'acétate neutre ou basique de plomb il se forme un précipité volumineux.

Après filtration le liquide déféqué est une solution jaune clair, qui donne les réactions suivantes :

1. La réaction de Sörensen relative aux acides aminés est positive. Si on neutralise une solution aqueuse d'acides aminés en présence de phénolphthaléine jusqu'à coloration rose pâle et qu'on ajoute ensuite une solution concentrée et neutre d'aldéhyde formique, le mélange donne une réaction nettement acide.

2. La réaction de la ninhydrine est également positive. Cette réaction colorée peut indiquer la présence d'un acide aminé. Réaction d'une très grande sensibilité, elle n'est pas spécifique car elle est également positive avec quelques autres corps, tels que les albumoses, les amines, les sels ammoniacaux, les aldoses, les cétooses et l'allantoïne.

Si on chauffe pendant une à deux minutes une solution neutre d'acides aminés avec quelques gouttes d'une solution de ninhydrine (tricétohydrindène), la solution se colore en bleu-violet foncé.

3. La réaction du biuret est négative.

4. Le même extrait ne donne aucune réaction positive des corps phénoliques.

Après cet examen préliminaire de l'extrait alcoolique, nous avons procédé à une recherche plus approfondie des acides aminés.

Une quantité d'extrait correspondant à 10 kg. de styles secs est déféquée par l'acétate basique de plomb. L'acétate de plomb précipite les corps protidiques, les acides organiques et les phosphates. Un excès du réactif pourrait entraîner certains acides aminés, telle que la tyrosine.

On diminue cette possibilité en déféquant d'abord avec l'acétate basique, puis vers la fin de la réaction avec de l'acétate neutre de plomb. L'acétate neutre de plomb moins efficace n'entraînerait pas les acides aminés.

La solution déféquée est séparée par filtration sur papier. Ensuite elle est concentrée à température aussi basse que possible dans le vide, jusqu'à consistance sirupeuse.

Le sirop jaune clair obtenu donne avec la ninhydrine une coloration bleu-violet très intense, il donne également une réaction de Sörensen positive. Si la solution renferme beaucoup d'acides aminés, ceux-ci devraient précipiter à basse température ; l'extrait déféqué et concentré ne laisse rien déposer même après un séjour prolongé à la glacière.

Malgré cet insuccès, nous avons eu recours à la méthode de Dakin⁹¹ pour l'isolement des acides aminés.

Le principe en est le suivant :

Une solution aqueuse d'acides aminés est soumise à un épuisement continu par l'alcool butylique normal.

Dans un ballon à fond rond on porte à l'ébullition l'alcool butylique. Les vapeurs condensées sont conduites dans un flacon cylindrique contenant la solution des acides aminés, par un tube arrivant à la partie inférieure de la solution.

L'alcool butylique, en passant de bas en haut à travers la couche aqueuse se charge des acides aminés. Par un tube placé au niveau supérieur, il est ensuite reconduit dans le ballon chauffé. L'opération doit s'effectuer sous une pression de 10 mm. environ. La durée d'une extraction est de 36 à 48 heures. L'extraction butylique est suivie d'une extraction par l'alcool propylique, en opérant dans les mêmes conditions.

La méthode de Dakin est basée sur les différences de solubilité des acides aminés dans l'alcool butylique.

Dans les conditions ci-dessus, l'alcool butylique dissout tous les acides monoaminés — monocarboxylés (glycocolle, alanine, valine, leucine, tyrosine, etc.) et un acide hétérocyclique (proline). Dans l'alcool butylique refroidi,

91. H.-D. DAKIN : *J. biol. Chem.*, 1920, 44, 499.

la proline reste seule en solution tandis que le mélange des autres acides aminés se dépose.

Un certain nombre d'acides aminés ne se dissolvent pas dans l'alcool butylique. Ce sont les acides monoaminés — dicarboxylés (acides aspartiques, glutamique, oxyglutamique). Ils sont précipités de la solution aqueuse sous forme de chlorhydrates. Enfin la solution aqueuse, épuisée par l'alcool butylique, peut renfermer les bases hexoniques (arginine, histidine, lysine). Ces dernières peuvent être séparées par précipitation avec l'acide phosphotungstique.

L'extraction par l'alcool propylique a pour but d'isoler l'oxyproline qui n'est que très peu soluble dans l'alcool butylique.

Nous avons soumis l'extrait déféqué et concentré de style de maïs à ce traitement. Mais nous n'avons pu démontrer la présence d'aucun acide aminé. L'alcool butylique déposa après refroidissement une petite quantité d'un résidu brun, de consistance très visqueuse. Cette matière donna bien une réaction positive avec la ninhydrine, mais après dissolution dans l'alcool méthylique ou dans l'alcool éthylique, il fut impossible d'obtenir un corps cristallisé.

De même l'extrait aqueux, épuisé par l'alcool butylique, donna une réaction positive à la ninhydrine. Mais ni par introduction de gaz chlorhydrique ni par addition d'acide phosphotungstique il ne se forma de précipité.

Une autre méthode pour l'extraction des acides aminés a été proposée par Brazier⁹².

Les acides aminés donnent des sels de cuivre caractéristiques.

Brazier utilise cette propriété pour isoler les acides aminés d'un extrait de plante sous la forme de sel de cuivre. Les différences de solubilité des sels de cuivre dans l'eau et dans l'alcool méthylique permettent une séparation efficace d'un mélange d'acides aminés.

Pour préparer les sels de cuivre, on opère de la façon suivante :

92. A. BRAZIER : *Biochem. J.*, 1930, 24, 1188.

Une solution aqueuse d'acides aminés est chauffée à l'ébullition pendant cinq minutes en présence d'un excès de carbonate de cuivre ; ensuite le mélange est évaporé à sec au bain-marie. En reprenant le résidu par l'eau, les sels de cuivre passent dans la solution aqueuse. Trois acides aminés donnent des sels difficilement solubles dans l'eau : l'acide aspartique, la leucine, la phénylalanine. Les sels solubles dans l'eau sont obtenus sous forme de cristaux caractéristiques par évaporation lente de leur solution aqueuse.

Nous avons préparé à titre de comparaison les sels de cuivre d'un grand nombre d'acides aminés par la technique suivante :

La solution aqueuse de l'acide aminé est chauffée à l'ébullition pendant cinq minutes en présence d'un excès d'hydroxyde de cuivre récemment précipité. La solution est filtrée à chaud. Les sels de cuivre difficilement solubles dans l'eau cristallisent aussitôt, tandis que les sels solubles se déposent après concentration de leur solution aqueuse.

Ces deux techniques de préparation des sels de cuivre des acides aminés ont été appliquées à l'extrait déféqué et concentré de style de maïs.

Les résultats négatifs fournis par les méthodes de Dakin et de Brazier semblent donc confirmer l'absence des acides aminés dans l'extrait étudié.

L'examen préliminaire de l'extrait de style de maïs nous ayant donné cependant plusieurs indices en faveur de la présence d'un acide aminé, nous a incité à poursuivre cette recherche en modifiant les conditions de la défécation, ce qui nous a conduit non à un acide aminé mais à l'isolement de l'allantoïne.

D. — Allantoïne.

Un extrait hydro-alcoolique dégraissé, correspondant à 6 kg. de plante sèche est d'abord précipité par une solution aqueuse de tanin à 7 p. 100, ce qui entraîne la majeure partie des protéines. On ajoute, sans filtrer le précipité, de

l'acétate basique de plomb en évitant un excès de ce réactif. Le précipité est alors séparé par filtration. On élimine le plomb du filtrat par un courant d'hydrogène sulfuré.

On sépare le sulfure de plomb; le filtrat parfaitement limpide est débarrassé de l'hydrogène sulfuré au bain-marie. Cette solution déféquée est concentrée dans le vide et à basse température à un volume de 200 cc. Pour séparer l'allantoïne des sucres renfermés dans l'extrait déféqué nous avons essayé de la précipiter sous forme de sel mercurique.

Avec l'acétate mercurique, l'allantoïne forme en effet une combinaison insoluble dans l'alcool. On n'arrive cependant pas à isoler l'allantoïne seule parce que le sel de mercure donne également des combinaisons insolubles avec les corps protéiques demeurés néanmoins après la défécation.

Les 200 cc. précédents sont alcalinisés avec une solution de carbonate de sodium à 10 p. 100. On y introduit alors par petites portions et en remuant le mélange, une solution à 25 p. 100 d'acétate mercurique, préparée à froid. Au moyen du carbonate de sodium on maintient la réaction alcaline du mélange pendant l'opération. L'allantoïne précipite sous forme d'un composé blanc. Un précipité jaune-orange de carbonate de mercure annonce la fin de la réaction. Ensuite on ajoute au mélange 6 à 8 fois son volume d'alcool et on laisse déposer. Le précipité est essoré et lavé par l'alcool à 80°.

On le remet ensuite en suspension aqueuse et on le décompose par l'hydrogène sulfuré. Le sulfure de mercure est séparé par filtration. L'allantoïne et les corps protidiques se trouvent dans le filtrat limpide et presque incolore.

Cette solution est concentrée dans le vide et abandonnée à la glacière.

Après trois jours de repos on observe le commencement d'une cristallisation. Lentement il se forme des aiguilles ou des prismes de forme irrégulière, groupés en mâcles. On sépare ces cristaux par décantation de la solution. La cristallisation est plus abondante après concentration des

eaux mères. Les deux récoltes sont groupées et lavées par l'alcool à froid. On obtient ainsi 3 gr. de cristaux.

On fait recristalliser deux fois dans l'eau bouillante où le produit est soluble. Il cristallise ensuite par refroidissement de la solution.

La solubilité dans l'alcool à 90° est beaucoup moindre. La solution dans l'alcool bouillant cristallise presque instantanément par refroidissement.

Le produit est insoluble dans l'éther et dans l'acétone.

Il est par contre soluble dans une solution de carbonate acide de sodium ou de carbonate neutre de sodium. Dans les deux cas, la dissolution n'est pas accompagnée de dégagement de gaz carbonique.

Après une recristallisation dans l'alcool suivie d'une troisième cristallisation lente dans l'eau, le produit est alors considéré comme pur. En effet, son point de fusion reste constant et fixé à 237°-238° avec décomposition à partir de 234°.

On peut caractériser facilement l'azote dans le produit. La recherche du soufre et du phosphore est négative. Bien que donnant une réaction positive avec la ninhydrine, l'examen de ce corps révèle que l'on ne se trouve pas en présence d'un acide aminé.

Les cristaux sont transparents, de couleur blanche. Ils sont sans odeur ni saveur. Leur solution aqueuse est neutre au papier de tournesol.

a) Cette solution est optiquement inactive. Or, tous les acides aminés existant dans la nature, le glyocolle excepté, sont des corps optiquement actifs. Les acides α -aminés possèdent en outre, une saveur douceâtre.

b) La réaction de Sörensen est caractéristique de tous les acides aminés. La solution aqueuse de ce corps donne la réaction de Sörensen « inversée », c'est-à-dire que la solution devient nettement alcaline en présence de l'aldéhyde formique. On sait qu'un acide aminé dans les mêmes conditions donne lieu à une réaction acide du mélange.

c) Dans des essais témoins nous avons préparé sans difficulté des sels de cuivre de nombreux acides aminés.

En appliquant les mêmes techniques au corps isolé nous n'avons pu préparer aucun composé cuivrique.

L'hydroxyde de cuivre fraîchement précipité, ajouté à la solution aqueuse du corps azoté se combine bien en formant un corps de couleur vert-olive très altérable, que nous n'avons pas pu isoler ; présomption en faveur de l'absence d'acides aminés.

d) Une solution neutre d'acides aminés se colore en rose quand on y ajoute de l'alloxane. Cette réaction ne se produit pas avec notre corps cristallisé.

Les propriétés physiques et chimiques démontrent donc que le corps examiné ne semble pas être un acide aminé.

e) La réaction de biuret est négative. Quand on chauffe une solution aqueuse du produit avec de la potasse caustique, il y a décomposition avec formation d'ammoniaque et d'acide oxalique.

Le corps isolé donne de plus les réactions suivantes :

Réaction de Schiff ⁹³ :

Si on ajoute à quelques cristaux une goutte d'une solution saturée de furfurol dans l'eau et ensuite une goutte d'acide chlorhydrique concentré, le liquide se colore d'abord en jaune, puis la coloration vire au vert, bleu, violet et finalement au rouge pourpre. Plus tard il se forme un précipité noir.

Réaction de Barrenscheen-Weltmann ⁹⁴ :

Une solution aqueuse du corps donne une coloration vert-jaunâtre avec quelques gouttes d'une solution chlorhydrique de p-diméthyl-amidobenzaldéhyde.

Réaction de Adamkiewicz ⁹⁵ :

Une solution du corps additionnée d'un peu de peptone et d'acide sulfurique concentré se colore en violet.

93. A. SCHIFF : *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1877, 10, 774.

94. BARRENSCHEEN-WELTMANN : *Wiener Med. Woch.*, 1922, 766.

95. ADAMKIEWICZ : *Chem. Zentralblatt*, 1875, 201.

Réaction de Agulhon et Thomas ⁹⁶ :

Le bichromate sulfurique produit avec quelques cristaux une coloration verte.

Réaction de Thomas ⁹⁷ :

Avec le phénol et l'hypochlorite de sodium les cristaux donnent une coloration verdâtre.

Réaction de Denigès ⁹⁸ :

Avec le réactif codéinique de Denigès, on obtient une coloration rose.

Dérivé xanthylé :

Le corps donne un dérivé xanthylé qui se présente sous forme de losanges microscopiques fondant à 214°-215°. Parmi les autres réactions chimiques de ce corps signalons qu'en solution alcaline le produit étudié réduit le réactif de Nessler ; il se forme lentement un précipité noir.

Chauffé à l'ébullition, il réduit lentement la liqueur de Fehling.

Il est précipité de sa solution aqueuse par le réactif de Millon, l'acétate de mercure, le nitrate d'argent ammoniacal.

Par contre, il ne précipite pas avec l'acétate de plomb neutre ou basique, le tanin, l'acide phosphotungstique.

Ce corps azoté présente les propriétés physiques et chimiques de l'allantoïne, $C^4 H^6 O^3 N^4$. Sa composition centésimale est en parfait accord avec la formule de l'allantoïne :

Substance : 4,005 mg.; CO^2 : 4,510 mg.; H^2O : 1,334 mg.
Substance : 4,545 mg.; N : 1,467 cc. à 14°/708 mm.

	Trouvé	Calculé pour $C^4 H^6 O^3 N^4$
C.	30,71	30,38
H.	3,70	3,79
N.	35,77	35,44

96. AGULHON et THOMAS : *Bull. Soc. Chim. France*, 1912, 11, 69.

97. THOMAS : *Bull. Soc. Chim. France*, 1912, 11, 769.

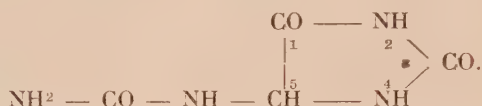
98. DENIGES : *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1909, 513.

Pour réaliser une identification indiscutable, nous avons comparé le produit isolé du style de maïs avec un échantillon d'allantoïne pur du commerce et une allantoïne préparée, par nous, synthétiquement. Ces trois produits se sont montrés en tous points identiques tant dans leurs propriétés physiques que chimiques et en particulier les dérivés xanthylés sont parfaitement semblables.

Il ne peut donc subsister aucun doute sur la présence en faible proportion de l'allantoïne dans les styles de maïs (0,5 0/00 de style sec).

Synthèse de l'allantoïne.

L'allantoïne correspond à la formule suivante :



On peut donc la considérer comme une 5 — uréido — hydantoïne ou comme un diuréide de l'acide glyoxylique (CHO — COOH).

Plusieurs méthodes ont été proposées pour la synthèse de l'allantoïne.

Simon et Chavanne⁹⁹ l'ont obtenue par condensation de l'urée avec l'ester éthylique de l'acide glyoxylique.

Par saponification en milieu alcalin le produit de la condensation est transformé en allantoïne.

Grimaux¹⁰⁰ a fait agir directement l'acide glyoxylique sur l'urée en chauffant le mélange pendant 10 heures à 100°.

Le procédé de Siemonsen¹⁰¹ est basé sur la combinaison de l'hydantoïne avec l'urée en présence de brome.

Enfin l'allantoïne peut être préparée par oxydation de l'acide urique.

Différents oxydants ont été préconisés :

L'ozone (Gorup-Besanez)¹⁰² ; le peroxyde de plomb

99. A. SIMON et CHAVANNE : *C. R.*, 1906, 143, 51.

100. E. GRIMAUX : *Ann. Chim.*, 1877, 11, 389.

101. A. SIEMONSEN : *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1904, 333, 133.

102. GORUP-BESANEZ : *Ann.*, 1859, 110, 94.

(Wohler)¹⁰³; le ferricyanure de potassium en milieu alcalin (Schlieper)¹⁰⁴; le permanganate de potassium en milieu alcalin (Claus)¹⁰⁵.

Nous avons donné la préférence à cette dernière technique :

7,5 gr. d'acide urique sont dissous dans 150 cc. d'eau froide. On ajoute de la potasse caustique concentré jusqu'à réaction nettement alcaline.

D'autre part, 2,3 gr. de permanganate de potassium sont dissous dans 100 cc. d'eau. On introduit cette solution par petites portions dans la solution d'acide urique. Ensuite on chauffe le mélange pendant deux minutes. L'oxyde de manganèse qui se dépose, sous forme de flocons bruns, est séparé par filtration. Le filtrat est aussitôt acidulé par l'acide acétique. La solution acétique, limpide et incolore est concentré dans le vide à moitié de son volume. On l'abandonne à la glacière. L'allantoïne cristallise sous forme de prismes groupés en mâcles.

Après une seule recristallisation de ce produit dans l'eau, son point de fusion reste constant à 237°-238°. L'allantoïne synthétique présente toutes les propriétés de l'allantoïne retirée du style de maïs et de l'allantoïne du commerce :

La réaction de la ninhydrine est positive, la décomposition en milieu alcalin fournit de l'ammoniaque et de l'acide oxalique, *la réaction de Sørensen est « inversée »* et toutes les réactions colorées que nous avons signalées pour l'allantoïne sont positives.

Enfin l'obtention de la xanthyl-allantoïne donne un produit ayant les mêmes caractères que le dérivé xanthylé obtenu à partir du produit isolé des styles de maïs.

*Préparation de la xanthyl-allantoïne*¹⁰⁶.

Une solution chaude de 1 gr. d'allantoïne dans 20 cc. d'eau est additionnée de 20 cc. d'acide acétique concentré. Après refroidissement on y introduit 2 gr. de xanthidrol

103. J. LIEBIG et F. WOHLER : *Ann.*, 1838, 26, 241.

104. R. SCHLIEPER : *Ann.*, 1848, 67, 219.

105. A. CLAUS : *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1874, 7, 226.

106. R. FOSSE et A. HIEULLE : *C. R.*, 1923, 176, 1719.

dissous à froid dans le volume d'acide acétique nécessaire. La cristallisation de la xanthyl-allantoïne s'amorce rapidement. Le produit apparaît sous forme d'une bouillie épaisse qu'on essore. La masse cristalline est lavée à l'eau. Redissoute dans l'alcool méthylique bouillant, elle cristallise de ce solvant en tablettes losangiques. Le produit fond à 214°-215; vers 210° les cristaux subissent une légère décomposition qui s'annonce par une coloration brune (1).

Parmi les corps puriques qui existent à l'état libre dans les plantes, seules la caféine et la théobromine ont été trouvées en quantité importante. Les autres dérivés puriques, entre autres l'allantoïne, ne se trouvent souvent qu'à l'état de traces, localisés dans quelques organes tels que les jeunes feuilles ou les bourgeons terminaux.

L'allantoïne fut isolé pour la première fois en 1799 par Vauquelin et Buniva¹⁰⁷ à partir du liquide amniotique de la vache et ces auteurs lui donnèrent pour cette raison le nom « d'acide amniotique ». Lassaigne¹⁰⁸ retira ce même corps de l'allantoïde et le baptisa du nom « d'acide allantoïque », car, disait-il, Vauquelin et Buniva avaient opéré, en réalité également sur l'eau de l'allantoïde. Liebig le désigna par la suite sous le nom d'allantoïne.

La première synthèse de l'allantoïne fut effectuée par Liebig et Wöhler¹⁰⁴ par oxydation à chaud de l'acide urique retiré des excréments de serpent au moyen d'une suspension aqueuse de peroxyde de plomb. Ils constatèrent que le produit de l'oxydation était identique à « l'acide allantoïque » de Lassaigne, mais en contestant cependant la nature acide attribuée à ce corps ; faisant remarquer qu'il ne rougissait pas le papier de tournesol et qu'il ne fournissait pas de sels, sauf un sel d'argent.

N.-B. (1). — D'après Fosse (109), cette méthode permet de précipiter l'allantoïne à l'état de traces.

Dans une solution renfermant 2 centigrammes d'allantoïne par cc. additionnée de 2 cgr. de xanthidrol, on observe après trois minutes le précipité de xanthylallantoïne.

Une solution qui ne renferme que 2 mg. d'allantoïne donne avec le xanthidrol un précipité cristallin après plusieurs heures.

107. VAUQUELIN et BUNIVA : *Ann. Chim.*, 1800, 33, 269.

108. J.-L. LASSAIGNE : *Ann. Chim.*, 1821, 17, 295.

109. R. FOSSE et A. HIEULLE, *C. R.*, 1923, 177, 199.

La découverte de l'allantoïne dans le liquide amniotique incita à rechercher ce corps dans les produits d'excrétions animales et en particulier dans les urines de nombreux animaux et de l'homme. Un nombre imposant de travaux sont relatifs à cette question de la présence, du dosage et du rôle de l'allantoïne dans l'urine. L'exposé de ces recherches sort du cadre de cette étude...

La découverte de l'allantoïne dans le règne animal conduisit à déceler sa présence dans de nombreuses plantes.

Schulze et Barbieri ¹¹⁰ l'ont retiré pour la première fois des bourgeons de *Platanus orientalis* (L.).

Schulze, en 1885, signala avoir trouvé ce corps dans les bourgeons de *Acer pseudoplatanus* (L.) et de *Acer campestre* (L.) et avec Bosshard ¹¹¹ il signala sa présence dans l'écorce d'*Aesculus Hippocastanum* (L.).

Richardson et Crampton ¹¹² ont retiré 0 gr. 50 p. 100 d'allantoïne des cotylédons du blé.

Lippmann ¹¹³ trouva dans les eaux mères du sucre de betteraves un corps azoté qu'il put identifier avec l'allantoïne.

Scurti et Perciabosco ¹¹⁴ ont rencontré l'allantoïne dans les semences du tabac, à côté de la nicotine.

Depuis longtemps en Angleterre on préparait une infusion aqueuse du rhizome de *Symphitum officinale* (L.) et on attribuait à cette préparation la faculté de guérir les ulcères et de cicatriser les blessures. Titherley ¹¹⁵ signala en 1912 que le principe actif de la drogue était l'allantoïne et il admet que la plante devait ses propriétés thérapeutiques à la présence de l'allantoïne. Ce fait fut confirmé par le médecin anglais Macalister ¹¹⁶. Avec des solutions aqueuses de ce corps il a traité avec succès des ulcères et

110. E. SCHULZE et BARBIERI : *J. prakt. chem.*, 1882, 25, 145.

111. E. SCHULZE et E. BOSSHARD : *Z. physiol. Chem.*, 1885, 9, 420.

112. C. RICHARDSON et C.-A. CRAMPTON : *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1886, 19, 1180.

113. O. VON LIPPMANN : *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1896, 29, 2645.

114. F. SCURTI et F. PERCIABOSCO : *Gazz. Chim. Italiana*, 1906, 36, 626.

115. A.-W. TITHERLEY : *Pharmaceutical Journal*, 1912, 34, 92.

116. C.-J. MACALISTER : *Brit. Med.*, 1912, 1, 10.

des prurits et, selon lui, l'allantoïne favoriserait les cicatrisations.

Le *Phaseolus multiflorus* (Willd), qui a joué un certain rôle dans la médecine populaire anglaise, fut l'objet d'une recherche de Power et Salway ¹¹⁷.

On avait attribué aux racines des propriétés narcotiques mais Power et Salway, constatèrent que la plante renfermait de l'allantoïne qui n'exerçait aucune action physiologique sur le système nerveux.

En 1927, Fosse ¹¹⁸ signale la présence simultanée d'allantoïne et d'acide allantoïque dans le *Phaseolus lunatus* (L.). L'acide allantoïque, qui dérive de l'allantoïne par déshydratation n'avait pas encore été signalé dans les végétaux.

Au point de vue biologique, Fosse ¹¹⁹ croit qu'il y a une relation étroite entre la présence de ces corps et la croissance de la plante. D'ailleurs Schreiner ¹²⁰ puis Bottomley ¹²¹ avaient déjà admis l'hypothèse que la guanine, l'hypoxanthine et les dérivés puriques exerçaient une influence favorable sur le développement des végétaux.

La découverte de l'allantoïne dans les styles de maïs, augmente le nombre des végétaux dans lesquels on a signalé sa présence.

L'action pharmacodynamique de cette substance n'a pas été étudiée et nous ne pouvons indiquer si c'est à elle que peut être attribuée l'action diurétique de la drogue que nous avons étudiée.

117. F.-B. POWER et A.-H. SALWAY : *Pharmaceutical Journal*, 1913, 36, 550.

118. R. FOSSE : *J. Pharm. Chim.*, 1927, 6, 313.

119. R. FOSSE : *C. R.*, 1933, 196, 883.

120. E. SCHRÉINER : *J. biol. Chem.*, 1910, 8, 385.

121. W.-B. BOTTOMLEY : *Proc. roy. Soc. London*, 1920, 91, 83.

RESUME ET CONCLUSIONS.

Les résultats de l'étude précédente sur la composition chimique des styles de maïs peuvent être résumés ainsi :

1. — *Analyse des cendres.*

Les styles de maïs étaient préconisés depuis longtemps comme une plante douée de propriétés diurétiques. Il était particulièrement intéressant de connaître la composition des cendres de cette drogue.

Une analyse soigneuse qui a porté sur les cendres obtenues à partir de 5 kilos de styles de maïs frais, a décelé la présence des éléments suivants :

Potassium, Sodium, Calcium, Magnésium, Aluminium, Fer.

Ces éléments existent dans la plante sous forme de : **chlorures, sulfates, phosphates, silicates, carbonates, formiates, acétates.**

De l'analyse quantitative ressort la *prédominance très marquée du Potassium* sur les autres éléments des cendres.

Cette constatation est remarquable car les sels de potassium, de même que les sels de calcium sont couramment employés comme médicaments diurétiques.

Par une action double, ces sels provoquent une augmentation de la sécrétion urinaire :

Premièrement ils excitent directement la cellule rénale et deuxièmement ils agissent par leurs propriétés osmotiques.

Dans ces conditions, il nous paraît justifié d'attribuer l'action pharmacodynamique des styles de maïs à la présence d'une forte quantité de sels de potassium dans cette drogue.

Cette explication trop facile nous a incité à poursuivre ce travail.

2. — *Etude des produits solubles dans l'alcool.*

Nous avons porté notre intérêt en particulier à la présence éventuelle d'un β -glucoside et d'un acide aminé dans l'extrait alcoolique de la plante étudiée. Nous devons cependant affirmer l'absence de tout corps rentrant dans ces deux catégories de principes actifs.

Par contre, nous avons pu prouver l'existence de deux sucres dans les styles de maïs séchés: le **glucose** et le **maltose**.

De plus, nous avons réussi à isoler un corps purique que l'on n'a pas souvent rencontré dans le règne végétal : l'**allantoïne** $C^4 H^6 O^3 N^4$.

L'action physiologique et pharmacodynamique de l'allantoïne n'a été que très peu étudiée jusqu'ici.

La présence de l'allantoïne dans l'urine semble tout au moins indiquer la possibilité que ce corps exerce quelque influence sur l'excrétion urinaire.

3. — *Examen des produits solubles dans l'éther.*

Au cours de la préparation de l'extrait alcoolique du style de maïs nous en avons retiré une quantité importante d'une cire.

L'étude de cette cire fait partie de l'exposé précédent quoique le principe actif de la drogue doive être recherché ailleurs.

Après saponification de la cire nous avons retiré de la partie insaponifiable 3 hydrocarbures saturés :

l'Heptacosane $C^{27} H^{56}$;

le Nonacosane $C^{29} H^{60}$;

l'Hentriacontane $C^{31} H^{64}$.

A côté des hydrocarbures, il existe dans la partie insaponifiable un mélange de **deux stérols**.

L'un d'eux, stérol monoéthylénique, est identique au **sitostérol**. Il a déjà été signalé par J. Miksic²⁰. L'autre sté-

rol signalé pour la première fois dans les styles de maïs n'est identique à aucun des stérols qui ont été décrits jusqu'ici.

Les constantes physiques et chimiques, montrent que ce stérol diéthylénique, est différent du stigmastérol. Nous avons préparé un certain nombre de dérivés, acétate, benzoate, acétate tétrabromé, dont nous signalons les propriétés, et d'où nous avons pu régénérer le stérol à l'état de pureté.

Nous avons en outre constaté que les dérivés saturés des stérols ne présentaient pas de fluorescence en lumière de Wood, alors que les dérivés dans lesquels les liaisons éthyléniques subsistent, présentaient une intensité de fluorescence égale à celle du stérol initial.

De la partie acide nous avons retiré les corps suivants :

a) Acides gras non saturés :

Acide oléique $C^{18} H^{34} O^2$;

Acide linoléique $C^{18} H^{32} O^2$;

Acide linolénique $C^{18} H^{30} O^2$.

b) Acides gras saturés :

Acide laurique $C^{12} H^{24} O^2$;

Acide palmitique $C^{16} H^{32} O^2$;

Acide stéarique $C^{18} H^{36} O^2$.

c) Un oxy-acide :

Acide cérébronique $C^{25} H^{50} O^3$.

d) Acides cireux :

Acide néocérotique $C^{25} H^{50} O^2$;

Acide cérotique $C^{27} H^{54} O^2$.

Qu'il nous soit permis de signaler que l'acide cérébronique, à notre connaissance, n'avait pas encore été isolé dans le règne végétal.

Nous ne dissimulons pas que cet essai sur la composition chimique des styles de maïs laisse encore bien des lacunes.

Quant à l'emploi de la drogue en médecine, il faut ad-

mettre qu'il est justifié par la présence d'une proportion élevée de sels minéraux dans les styles. Il ne nous appartient pas de juger si cette action purement saline d'une préparation galénique ne serait pas avantageusement remplacée par un médicament plus simple.

Vu : *Le Président de Thèse,*
A. GORIS

Vu : *Le Doyen,*
PAUL GUÉRIN

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris:
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ACOSTA (Joseph de). — *Historia natural y moral de las Indias*, Sevilla, 1590.
- ADAMKIEWICZ. — *Chem. Zentralblatt*, 1875, 201.
- AGULHON et THOMAS. — *Bull. Soc. Chim. France*, 1912, 11, 69.
- ANDERSON et NABENHAUER. — *J. amer. chem. Soc.*, 1926, 48, 2972.
- ANDERSON et SHRINER. — *J. amer. chem. Soc.*, 1926, 48, 2976.
- BAILLON (H.). — *Traité de Botanique Médicale*, Paris, 1884, 2, 1374.
- BARRENSCHEEN-WELTMANN. — *Wiener Med. Woch.*, 1922, 766.
- BLARINGHEM (L.). — *Ann. Sc. nat. bot.*, 1924, 6, 245.
- BONSTEDT (K.). — *Z. physiol. Chem.*, 1928, 176, 269.
- BÖRNER. — *Gazz. Chim. Italiana*, 1889, 29, 1.
- BOTTOMLEY (W. B.). — *Proc. roy. Soc. London*, 1920, 91, 83.
- BOUGAULT (J.) et CATTELAÏN (E.). — *J. Pharm. Chim.*, 1931, 14, 97; 1932, 15, 97.
- BRAZIER (A.). — *Biochem. J.*, 1930, 24, 1188.
- BRIGL (P.). — *Z. physiol. Chem.*, 1915, 95, 161.
- BRODIE. — *J. Pharm. Chim.*, 1849, 15, 145.
- BUNIVA et VAUQUELIN. — *Ann. Chim.*, 1800, 33, 269.
- BURIAN (R.). — *Monatsh.*, 1897, 18, 551.
- CARIUS. — *Bul. Soc. Chim. France*, 1864, 2, 375.
- CAVX (F. H.) et PYMAN (F. L.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1914, 105, 1591.
- CAZEN (F. J.). — *Traité pratique des plantes médicinales indigènes*, Paris, 1886, 1187.
- CLAUS (A.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1874, 7, 226.
- DAKIN (H. D.). — *J. biol. Chem.*, 1920, 44, 499.
- DALMER (O.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1935, 68, 1814.
- DAMOIS (G.). — *Thèse Fac. Pharm.*, Paris, 1924.
- DECHAMBRE. — *Dictionnaire des Sciences Médicales*, 1869, 91, 90.
- DENIGÈS. — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1909, 513.
- DESPLACES (M.). — *Histoire de l'agriculture ancienne*, Paris, 1810.
- DIGUET (L.). — *Journal des américanistes de Paris*, 1910, 7, 5.
- DOBY (G.). — *Biochem. Z.*, 1914, 64, 111.

- DUCHESNE (E. A.). — *Traité du Maïs ou Blé de Turquie*, Paris, 1833.
- EKECRANTZ (Th.) et LUNDSTRÖM. — *Arch. d. Pharm.*, 1910, 248, 500.
- FERNHOLZ (E.). — *Ann.*, 1933, 507, 128; 1934, 508, 215.
- FERNHOLZ (E.). — *Ann.*, 1934, 508, 218.
- FOSSE (R.). — *J. Pharm. Chim.*, 1927, 6, 313.
- FOSSE (R.). — *C. R.*, 1933, 196, 883.
- FOSSE (R.) et HIEULLE (A.). — *C. R.*, 1923, 176, 1719.
- FOSSE (R.) et HIEULLE (A.). — *C. R.*, 1923, 177, 199.
- FUCHS (Leonhardt). — *Commentaires très excellens de l'histoire des plantes*, traduit en français par Eloy MAIGNAN, Paris, 1549, Chap. CCCIX.
- GASCARD. — *Thèse Fac. des Sciences*, Paris, 1920.
- GEOFFROY (Stephanus-Franciscus). — *Tractatus de Materia Medica*. Paris, 1741, 3, 830.
- GORUP-BESANEZ. — *Ann.*, 1859, 110, 94.
- GRIMAUZ (E.). — *Ann. Chim.*, 1877, 11, 389.
- GUITERAS (A.). — *Z. physiol. Chem.*, 1933, 214, 89.
- HART (C.) et HEYL (F. W.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1916, 38, 2805.
- HEILBRONN (I. M.). — *Biochem. J.*, 1932, 26, 1178.
- HEINTZ. — *Arch. d. Pharm.*, 1856, 125, 193.
- HOLDE (D.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1905, 38, 1247.
- HUMBOLDT (de). — *Voyage aux régions équinoxiales*, Paris, 1822, 3, pp. 16 et 396.
- KARRER (P.). — *Helv. Chim. Acta*, 1931, 14, 1036, 1431.
- KLENK (E.). — *Z. physiol. Chem.*, 1927, 166, 268.
- KLOBB (T.), GARNIER (J.) et EHRWEIN (R.). — *Bull. Soc. Chim. France*, 1910, 7, 947.
- KRAFFT. — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1882, 15, 1687.
- LAET (Jean de). — *Histoire du Nouveau Monde, ou description des Indes occidentales*, Leyde, 1640, 238.
- LASSAIGNE (J.-L.). — *Ann. Chim.*, 1821, 17, 295.
- LEMERY (N.). — *Traité universel des drogues simples*, Paris, 1698, 472.
- LETTRE (H.) et INHOFFEN (H.). — *Sammlung chem. und chem.-techn. Vorträge*, 1936, 29, 111, Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Stoffe.
- LEVENE (P. A.) et JACOBS (W. A.). — *J. biol. Chem.*, 1912, 12, 381.
- LEVENE (P. A.) et TAYLOR (F. A.). — *J. biol. Chem.*, 1922, 52, 227.
- LEWKOWITSCH (J.). — *Proc. chem. Soc.*, 1890, 92.

- LIPP (A.) et KUHN (E.). — *J. prakt. chem.*, 1912, 86, 197; 1919, 99, 259.
- LIPPMANN (O.). — *Ber. dtsch. chem. Ges.*, 1896, 29, 2645.
- MACALISTER (C. J.). — *Brit. Med.*, 1912, 1, 10.
- MARIE. — Thèse Fac. des Sciences, Paris, 1895.
- MATTHIOLUS (P. A.). — *Commentarii*, Venise, 1558, p. 251.
- MATTHIOLUS (P. A.). — Les Commentaires, traduits en français par A. du PINET, Lyon, 1561, pp. 167, 204.
- MATTHIOLUS (P. A.). — Les Commentaires, traduits en français par A. du PINET, Lyon, 1572, p. 175.
- MERAT et de LENS. — Dictionnaire de Matière Médicale, Paris, 1834.
- MIKSIC (Josip). — *Chem. Zentralblatt*, 1934, 1, 1.507.
- MONTESQUIEU. — De l'esprit des lois, édit. Dalibon, Paris, 1827. Liv. 7, chap. 9, p. 181.
- PARMENTIER (A. A.). — Œuvres diverses d'économie rurale et domestique. Instruction sur la culture et les usages du Maïs. Paris, 1785.
- PARMENTIER (A. A.). — Le Maïs ou Blé de Turquie apprécié sous tous ses rapports. Paris, 1812.
- PLANCHON et COLLIN. — Les drogues simples, Paris, 1895, 1, pp. 115-116.
- POUCHET. — Précis de Pharmacologie, Paris, 1902, 756.
- POWER (F. B.) et LEES (F. H.). — *Chem. Zentralblatt*, 1903, 2, 893.
- POWER (F. B.) et MOORE (C. W.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 99.
- POWER (F. B.) et MOORE (C. W.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 1099.
- POWER (F. B.) et SALWAY (A. H.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1908, 30, 251.
- POWER (F. B.) et SALWAY (A. H.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 231.
- POWER (F. B.) et SALWAY (A. H.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1911, 99, 490.
- POWER (F. B.) et SALWAY (A. H.). — *Pharmaceutical Journal*, 1913, 36, 550.
- POWER (F. B.) et TUTIN. — *Chem. Zentralblatt*, 1904, 2, 1418.
- POWER (F. B.) et TUTIN. — *Chem. Zentralblatt*, 1904, 2, 1623.
- POWER (F. B.) et TUTIN. — *Arch. d. Pharm.*, 1907, 245, 337.
- POWER (F. B.) et TUTIN. — *Journ. chem. Soc. London*, 1908, 93, 891.
- POWER (F. B.) et TUTIN. — *Journ. chem. Soc. London*, 1913, 103, 1267.

- RADEMAKER (C. I.) et FISCHER (S. L.). — *Amer. J. of Pharm.*, 1886, 58, 369.
- REINITZER (E.). — *Monatsh.*, 1888, 9, 421.
- RICHARDSON (C.) et CRAMPTON (C. A.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1886, 19, 1180.
- ROGERSON (H.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1910, 97, 1004.
- ROSENHEIM (A.). — *Biochem. J.*, 1915, 10, 146.
- ROSENTHALER. — *Arch. d. Pharm.*, 1913, 251, 56.
- FUELLIUS (J.). — *De natura stirpium*, Paris, 1536, p. 539.
- RUZICKA et EICHENBERGER. — *Helv. Chim. Acta*, 1935, 18, 430.
- SANDQVIST (H.) et BENGTSSON (E.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1931, 64, 2167.
- SANDQVIST et GORTON. — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1930, 63, 1935.
- SCHIFF (A.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1877, 10, 774.
- SCHLIEPER (R.). — *Ann.*, 1848, 67, 219.
- SCHREINER (E.), REED, SKINNER. — *J. biol. Chem.*, 1910, 8, 385.
- SCHULZE (E.) et BARBIERI (J.). — *J. prakt. chem.*, 1882, 25, 145.
- SCHULZE (E.) et BARBIERI (J.). — *J. prakt. chem.*, 1882, 25, 165.
- SCHULZE (E.) et BOSSHARD (E.). — *Z. physiol. Chem.*, 1885, 9, 420.
- SCHWALB (F.). — *Ann.*, 1886, 235, 106.
- SCURTI (F.) et PERCIABOSCO (F.). — *Gazz. Chim. Italiana*, 1906, 36, 626.
- SIEMONSEN (A.). — *Ann. d. Chem. und Pharm.*, 1904, 333, 133.
- SIMON et CHAVANNE. — *C. R.*, 1906, 143, 51.
- THIERFELDER (H.). — *Z. physiol. Chem.*, 1904, 43, 21.
- THOMAS. — *Bull. Soc. Chim. France*, 1912, 11, 769.
- THORPE (T. E.) et HOLMES (J.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1901, 79, 982.
- TITHERLEY (A. W.). — *Pharmaceutical Journal*, 1912, 34, 92.
- TROPSCH et KREUTZER. — *Chem. Zentralblatt*, 1922, 4, 561.
- TSCHIRCH (A.). — *Handbuch der Pharmacognosie*, Leipzig, 1909, 1, 754; 2, 194-197.
- TUTIN et CLEWER. — *Journ. chem. Soc. London*, 1912, 101, 2221.
- TUTIN et CLEWER. — *Journ. chem. Soc. London*, 1914, 105, 1845.
- VASSAL (H.). — *Journ. Pharm. Anvers*, 1881, 37, 153.
- WINDAUS (A.) et HAUTH. — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1906, 39, 4378.

- WINDAUS (A.) et LÜTTREINGHAUS. — *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen*, 1932, 4, 1.
- WINDAUS (A.) et WELSCH (E.). — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1909, 42, 612.
- WINTERSTEIN (A.) et STEIN (G.). — *Z. physiol. Chem.*, 1931, 202, 222.
- WÖHLER (F.) et LIEBIG (J.). — *Ann.*, 1838, 26, 241.
- WOOD (T. B.). — *Journ. chem. Soc. London*, 1896, 69, 539.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	7
PREMIERE PARTIE	
CHAPITRE I	
Origine géographique et botanique du maïs	11
CHAPITRE II	
Emploi du maïs et des styles en thérapeutique	17
CHAPITRE III	
Résumé des travaux antérieurs sur la composition chimique des styles de maïs	23
DEUXIEME PARTIE	
CHAPITRE IV	
Analyse des cendres de styles de maïs	27
CHAPITRE V	
Examen des produits solubles dans l'éther	37
A. — Acides gras	41
B. — Matière insaponifiable :	
Hydrocarbures	64
Alcools de poids moléculaire élevé, stérols ..	70
CHAPITRE VI	
Etude des produits solubles dans l'alcool	95
Recherche des sucres et hétérosides	95
Recherche des alcaloïdes	99
Recherche des acides aminés	99
Allantoïne	103
Résumé et conclusions	113
Index bibliographique	117

